



Rui Pedro Freire Lopes de Ferros Pimentel

Licenciatura em Engenharia Biomédica

Desenvolvimento de um Sensor de Ibuprofeno em meio aquoso

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Biomédica

Orientadora: Prof. Dr.^a Maria de Fátima Guerreiro da Silva Campos
Raposo, FCT/UNL

Júri:

Presidente: Prof. Dr.^a Carla Maria Quintão Pereira

Arguente: Prof. Dr. José Luís Constantino Ferreira

Vogal: Prof. Dr.^a Maria de Fátima Guerreiro da Silva Campos Raposo



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Outubro 2014



Desenvolvimento de um Sensor de Ibuprofeno em meio aquoso

Rui Pimentel

2014



Rui Pedro Freire Lopes de Ferros Pimentel

Licenciatura em Engenharia Biomédica

Desenvolvimento de um Sensor de Ibuprofeno em meio aquoso

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Biomédica

Orientadora: Prof. Dr.^a Maria de Fátima Guerreiro da Silva Campos
Raposo, FCT/UNL

Júri:

Presidente: Prof. Dr.^a Carla Maria Quintão Pereira

Arguente: Prof. Dr. José Luís Constantino Ferreira

Vogal: Prof. Dr.^a Maria de Fátima Guerreiro da Silva Campos Raposo



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Outubro 2014

Desenvolvimento de um Sensor de Ibuprofeno em meio aquoso

Copyright©2014 - Todos os direitos reservados. Rui Pedro Freire Lopes de Ferros Pimentel.
Faculdade de Ciências e Tecnologia. Universidade Nova de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objectivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Agradecimentos

À minha orientadora, a Professora Doutora Maria de Fátima Raposo, por toda a dedicação e entusiasmo, pelos conhecimentos científicos que me transmitiu, pela forma como me integrou e, em especial, pelas palavras que trocámos fora do âmbito do projeto. Devo-lhe um imenso respeito e uma motivação que me acompanhará no futuro, indubitavelmente.

Ao Professor Doutor Paulo Ribeiro pelas úteis indicações que me deu e por alguns momentos de boa disposição. À Professora Doutora Susana Sérgio pelo apoio na realização deste trabalho e pela prestabilidade e pela simpatia que sempre demonstrou.

Ao Luís Abegão e à Andreia Duarte pelos ensinamentos laboratoriais e incentivos, que foram imprescindíveis na realização deste trabalho.

À minha família que sempre acreditou em mim, que me acarinhou, suportou, apoiou e motivou em todas as decisões difíceis que tomei no meu percurso académico, fornecendo-me a força e perseverança necessárias para que os meus objetivos se pudessem tornar conquistas.

Resumo

A proteção dos recursos hídricos tem uma enorme importância ecológica, sendo a água um recurso indispensável à Vida e fundamental para o bem-estar de uma sociedade. Para isso, muitos dos poluentes que afetam a qualidade deste recurso natural são detetados e eliminados nas estações de tratamento de águas residuais. Porém, o impacto dos Produtos Farmacêuticos e de Cuidado Pessoal (PPCPs), usados à escala global, carece ainda da atenção necessária, dado que os meios técnicos atualmente disponíveis para detetar estes produtos são dispendiosos ou insuficientes. Dentro daquela classe de produtos, destaca-se o Ibuprofeno, uma vez que este composto, sendo lipossolúvel, tem a capacidade para se acumular nas gorduras dos seres vivos e, por conseguinte, persistir no meio-ambiente com efeitos nocivos. Para além desse facto, por diferentes vias de reação, o Ibuprofeno tem potencial para gerar produtos de carácter semelhante. No entanto, poucos esforços têm sido feitos no sentido de o detetar. Assim, pretendeu-se com este projeto desenvolver metodologias com vista à deteção de muito baixas concentrações (entre o nano e o picoMolar) daquele composto em meio aquoso. Foi utilizada a tecnologia de Língua Eletrónica por Espectroscopia de Impedância e, para tentar melhorar a sensibilidade do sensor à molécula-alvo, foram utilizados filmes finos à base de nanotubos de carbono e de diferentes polieletrólitos, preparados pela técnica de Camada-sobre-Camada (LbL, do inglês *Layer-by-Layer*). A caracterização destes filmes foi feita pela técnica Espectrofotometria na faixa dos Ultravioleta e Visível. Para além da análise de diferentes concentrações de Ibuprofeno, foram ainda analisadas soluções de Cloreto de Sódio, com o intuito de perceber se o sensor é versátil na deteção de outro tipo de compostos, sendo, então, o sal um composto barato e relevante neste âmbito, uma vez que a água na Natureza apresenta sempre alguma salinidade. O trabalho compreendeu ainda o desenvolvimento de um programa informático para automatizar o processo de aquisição dos dados espectrais de impedância, recolhidos pelo analisador *HAMEG Programmable LCR Bridge HM8118*, o que foi feito com sucesso. Posteriormente, os dados foram tratados pelo procedimento estatístico de Análise de Componentes Principais, que permitiu discriminar espacialmente e sequencialmente as diferentes concentrações dos compostos analisados.

Palavras-Chave: Língua Eletrónica; Ibuprofeno; sensor; Espectroscopia de Impedância; Filmes finos; Camada-sobre-Camada.

Abstract

The protection of water resources has a huge ecological importance, since water is vital to life and essential to the well-being of a society. For this reason, many of the pollutants that affect the quality of this natural resource are detected and removed in the wastewater treatment plants. However, the impact of the Pharmaceutical and Personal Care Products (PPCPs), used worldwide, still lacks the necessary attention, because the currently available technical means to detect these products are expensive or not good enough. Within that class of products, there is Ibuprofen, since this compound, being fat soluble, has the ability to accumulate in the fat of living things and therefore it persists in the environment with prejudicial effects. Furthermore, by different reaction pathways, Ibuprofen has the potential to generate products of a similar nature. Nevertheless, brief efforts have been made to detect it. So, in this project is intended to develop methodologies to detect very low concentrations (between nano and picoMolar) of Ibuprofen in aqueous medium. It was used an Electronic Tongue (e-tongue) based on Impedance Spectroscopy. To try to improve the sensitivity of the sensor to the target molecule, it was produced thin films of carbon nanotubes and different polyelectrolytes by Layer-by-Layer (LbL) technique. The characterization of these films was done by Ultraviolet-Visible Spectrophotometry. Apart from the analysis of different concentrations of Ibuprofen, sodium chloride solutions were additionally analyzed, in order to understand if the sensor is versatile on the detection of other kinds of compounds. This different compound was chosen because the water in Nature has always some salinity and because this salt is an inexpensive material. This work also involved the development of a computer program to automate the process of acquisition of spectral impedance data collected by the analyzer HAMEG Programmable LCR Bridge HM8118, which was done successfully. Subsequently, the data were treated by the statistical procedure of Principal Component Analysis (PCA) that allowed to spatially and sequentially discriminate different concentrations of those analyzed compounds.

Keywords: Electronic Tongue; Ibuprofen; sensor; Impedance Spectroscopy; Thin Films; Layer-by-Layer.

Índice de Matérias

Capítulo I – Introdução	1
1.1. Introdução e Enquadramento do Tema	1
1.2. Descrição do Trabalho Desenvolvido	2
Capítulo II – Conceitos Teóricos / Metodologias	3
2.1. Língua Eletrónica	3
2.2. Filmes finos: heteroestruturas sensoriais	5
2.3. Espectroscopia de Impedância aplicada a sensores	6
2.4. Análise de Componentes Principais	9
Capítulo III – Procedimentos Experimentais	11
3.1. Preparação de filmes finos de (PAH/MWCNT) ₅ , (PAH/PAZO) ₅ e (PPV/MWCNT) ₁₀	11
3.2. Caracterização dos filmes por Espectrofotometria de Ultravioleta-Visível	16
3.3. Preparação das Soluções de Ibuprofeno e de Cloreto de Sódio	17
3.4. Análise de Impedância	19
Capítulo IV – Automatização da Análise Espectral de Impedância	21
4.1. Plataforma de Desenvolvimento do Programa	21
4.2. Desenvolvimento e Funcionamento do Programa	23
4.3. Instruções para o Utilizador	29
Capítulo V – Resultados	31
5.1. Análise de Impedância sem Heteroestruturas Sensoriais acopladas aos Interdigitados	31
5.1.1. Análise de Água Ultrapura e de soluções aquosas de Ibuprofeno	31
5.1.2. Análise de Água Ultrapura e de soluções aquosas de Cloreto de Sódio	35
5.2. Análise dos Espectros de Impedância obtidos com a utilização de Heteroestruturas Sensoriais	39
5.2.1. Análise dos Espectros de soluções de Ibuprofeno com Filme (PAH/MWCNT) ₅	40
5.2.2. Análise dos Espectros de soluções de Cloreto de Sódio com Filme (PAH/MWCNT) ₅	42
5.2.3. Análise dos Espectros de soluções de Ibuprofeno com Filme (PAH/PAZO) ₅	44
5.2.4. Análise dos Espectros de soluções de Cloreto de Sódio com Filme (PAH/PAZO) ₅	46
5.2.5. Análise dos Espectros de soluções de Ibuprofeno com Filme (PPV/MWCNT) ₁₀	48
5.2.6. Análise dos Espectros de soluções de Cloreto de Sódio com Filme (PPV/MWCNT) ₁₀	50
5.2.7. Observações	52
5.3. Discriminação de Concentrações por aplicação de PCA	52
5.3.1. Extração das Variáveis	52
5.3.2. PCA em Ibuprofeno	53

5.3.3. PCA em Cloreto de Sódio	54
5.3.4. Comentário Final	55
Capítulo VI – Conclusão	57
6.1. Conclusões	57
6.2. Perspetivas para o Futuro	58
Referências	59

Índice de Figuras

Fig. 2.1 – Exemplos de informação obtida por uma língua humana, processada no cérebro, e informação obtida por uma Língua Eletrônica, processada por métodos estatísticos	3
Fig. 2.2 – Filmes Finos obtidos pelas técnicas de: a) <i>Langmuir-Blodgett</i> ; b) Auto-montagem, designação pela qual também é conhecida a Camada-sobre-Camada	5
Fig. 2.3 – Circuito RLC série: uma Fonte de Tensão Alternada em série com uma Resistência (R), uma Bobina (L) e um Condensador (C)	6
Fig. 3.1 – Fluxograma das atividades inerentes à realização desta tese	11
Fig. 3.2 – Exemplar de um Sensor Interdigitado utilizado neste estudo	12
Fig. 3.3 – Estrutura química do monômero de: a) poli (cloreto de alilamina) (PAH); b) poli (1-(4-(3-carboxi-4-hidroxifenilazo) benzenesulfonamida)-1,2-etanodiol) (PAZO); c) poli (cloreto de tetrahidrotiofeno de xililideno) (PTHT)	13
Fig. 3.4 – Fotografia da bancada de trabalho antes de se preparar um filme de: a) (PAH/MWCNT) ₅ ; b) (PAH/PAZO) ₅ ; c) (PTHT/MWCNT) ₁₀	16
Fig. 3.5 – Espectros de Absorvância a Ultravioleta-Visível (200–900 nm) dos substratos de vidro simples e desses substratos com filmes de (PAH/MWCNT) ₅ , (PAH/PAZO) ₅ e (PTHT/MWCNT) ₁₀	17
Fig. 3.6 – a) Estrutura química do Ibuprofeno (C ₁₃ H ₁₈ O ₂); b) Fotografia do Ibuprofeno adquirido à Alfa Aesar®	18
Fig. 4.1 – Analisador de Impedância HAMEG Programmable LCR Bridge HM8118	20
Fig. 4.2 – Lista de frequências de trabalho do Analisador HAMEG	22
Fig. 4.3 – a) Ligações que permitem a configuração do porto série, no Diagrama de Blocos; b) Painel de configuração do porto série na interface gráfica do programa	24
Fig. 4.4 – Entrada do operador VISA <i>Write Function</i>	25
Fig. 4.5 – Painel de Configuração dos limites da frequência de aquisição, da tensão elétrica de trabalho e do tempo de aquisição em cada frequência, cuja evolução se pode acompanhar no indicador subjacente	26
Fig. 4.6 – Código responsável pelo atraso de tempo, equivalente ao <i>delay before read</i> , sofrido pelos "fios" VISA <i>resource name</i> (a roxo) e pelo <i>error out</i> (a verde) na sua transmissão	26
Fig. 4.7 – Entrada e saída do operador VISA <i>Read Function</i>	27
Fig. 4.8 – Aspeto visual do Programa, elaborado no Painel Frontal do LabVIEW: I) Painel de configuração do porto série; II) Painel de configuração dos parâmetros de aquisição, visualização, gravação ou remoção dos dados e interrupção da execução do Programa; III) Ligar ou Desligar escrita e/ou envio no porto série, visualização da <i>string</i> recebida e do número de <i>bytes</i> que a codificou	28
Fig. 4.9 – Forma de apresentação dos documentos ".txt" guardados, que contêm as medidas obtidas pelo Analisador	29

Fig. 5.1 – Espectros de a) Capacitância, b) Resistência e c) Fator de Dissipação, obtidos em água ultrapura e em soluções aquosas de Ibuprofeno, em concentrações de 10^{-4} M a 10^{-10} M, a 25° C, adquiridos sem filme sobre os elétrodos interdigitais	31
Fig. 5.2 – Gráficos que demonstram as dependências de a) Capacitância, b) Resistência e c) Fator de Dissipação com a Concentração (M) de Ibuprofeno em solução aquosa, para uma frequência de 100 Hz	33
Fig. 5.3 – Espectros de a) Capacitância, b) Resistência e c) Fator de Dissipação, obtidos em água ultrapura e em soluções aquosas de Cloreto de Sódio, em concentrações de 10^{-4} M a 10^{-10} M, a 25° C, adquiridos sem filme sobre os elétrodos interdigitais	35
Fig. 5.4 – Gráficos que demonstram as dependências de a) Capacitância, b) Resistência e c) Fator de Dissipação com a Concentração (M) de Cloreto de Sódio em solução aquosa, para uma frequência de 100 Hz	37
Fig. 5.5 – Espectros de a) Capacitância, b) Resistência e c) Fator de Dissipação, obtidos em Água ultrapura e em solução aquosa de Ibuprofeno, em concentrações de 10^{-9} M a 10^{-12} M, a 25° C, adquiridos com filme de (PAH/MWCNT) ₅	39
Fig. 5.6 – Espectros de a) Capacitância, b) Resistência e c) Fator de Dissipação, obtidos em Água ultrapura e em solução aquosa de Cloreto de Sódio, em concentrações de 10^{-8} M a 10^{-11} M, a 25° C, adquiridos com filme de (PAH/MWCNT) ₅	41
Fig. 5.7 – Espectros de a) Capacitância, b) Resistência e c) Fator de Dissipação, obtidos em Água ultrapura e em solução aquosa de Ibuprofeno, em concentrações de 10^{-9} M a 10^{-12} M, a 25° C, adquiridos com filme de (PAH/PAZO) ₅	43
Fig. 5.8 – Espectros de a) Capacitância, b) Resistência e c) Fator de Dissipação, obtidos em Água ultrapura e em solução aquosa de Cloreto de Sódio, em concentrações de 10^{-8} M a 10^{-11} M, a 25° C, adquiridos com filme de (PAH/PAZO) ₅	45
Fig. 5.9 – Espectros de a) Capacitância, b) Resistência e c) Fator de Dissipação, obtidos em Água ultrapura e em solução aquosa de Ibuprofeno, em concentrações de 10^{-9} M a 10^{-12} M, a 25° C, adquiridos com filme de (PPV/MWCNT) ₁₀	47
Fig. 5.10 – Espectros de a) Capacitância, b) Resistência e c) Fator de Dissipação, obtidos em Água ultrapura e em solução aquosa de Cloreto de Sódio, em concentrações de 10^{-8} M a 10^{-11} M, a 25° C, adquiridos com filme de (PPV/MWCNT) ₁₀	49
Fig. 5.11 – Exemplo de Regressão não-linear aplicada aos espectros de Fator de Dissipação obtidos entre os 20 e os 90 Hz	52
Fig. 5.12 – Representação gráfica que demonstra a relação entre as Concentrações de Ibuprofeno, em 0 M, 10^{-12} M, ... 10^{-9} M, e as Componentes Principais F1 e F2, que no seu conjunto explicam 96.37% da variância total	53
Fig. 5.13 – Representação gráfica que demonstra a relação entre as Concentrações de Cloreto de Sódio, em 0 M, 10^{-12} M, ... 10^{-8} M, e as Componentes Principais F1 e F2, que no seu conjunto explicam 91.99% da variância total	54

Índice de Tabelas

Tabela 3.1 – Algumas propriedades físicas e químicas do Ibuprofeno	18
---	----

Simbologia, Siglas e Acrónimos

AC – Corrente alternada (deriva do inglês)

ASCII – Código americano *standard* para troca de informação (deriva do inglês)

C – Condensador

c.d.o. – Comprimento de onda

C+R – Modo de aquisição de Capacitância e Resistência

C₁₃H₁₈O₂ – Ibuprofeno

CAS – Número de registo atribuído pelo *Chemical Abstracts Service*

CEFITEC – Centro de Física e Inovação Tecnológica

Cl⁻ – Ião Cloreto

COM – Porto de comunicação

COO⁻ – Ião Carboxilato

COX – Ciclooxygenases

DC – Corrente contínua (deriva do inglês)

FETs – Transístores de Efeito de Campo (deriva do inglês)

GC-MS – Combinação das técnicas de Cromatografia Gasosa com Espectrometria de Massa (deriva do inglês)

H₂O – Água

HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Performance (deriva do inglês)

K_{ow} – Coeficiente de Partição Octanol-Água

L – Bobina

LB – Langmuir-Blodgett

LbL – Camada-sobre-Camada (deriva do inglês)

LC-MS – Combinação das técnicas de Cromatografia Líquida com Espectrometria de Massa (deriva do inglês)

LD₅₀ – Dose letal

MWCNT – Nanotubos de Carbono de Múltiplas Paredes (deriva do inglês)

N=N – Ligação dupla de átomos de Azoto

Na⁺ – Ião de Sódio

NaCl – Cloreto de Sódio

NH₃⁺ – Ião de Amoníaco

PAH – Poli (cloreto de alilamina)

PAZO – Poli (1-(4-(3-carboxi-4-hidroxifenilazo)-benzenesulfonamida)-1,2-etanodiiil)

PCA – Análise de Componentes Principais (deriva do inglês)

pK_a – Constante de Dissociação Ácida

PPCPs – Produtos Farmacêuticos e de Cuidado Pessoal (deriva do inglês)

PPV – Poli (p-fenilenovinileno)

PTHT – Poli (cloreto de tetrahidrotiofeno de xililideno)

RS232 – *Standard* de comunicação em série

SCPI – Comandos *standard* para instrumentos programáveis (deriva do inglês)

SWCNT – Nanotubos de Carbono de Parede Única (deriva do inglês)

USB – *Universal Serial Bus*

UV – Ultravioleta

VISA – *Virtual Instrument Software Architecture*

(PAH/MWCNT)₅ – Filme de cinco bicamadas de PAH e MWCNT

(PAH/PAZO)₅ – Filme de cinco bicamadas de PAH e PAZO

(PPV/MWCNT)₁₀ – Filme de dez bicamadas de PPV e MWCNT

(PTHT/MWCNT)₁₀ – Filme de dez bicamadas de PTHT e MWCNT

(R)-(-) – Enantiómero farmacologicamente inactivo do Ibuprofeno

(S)-(+) – Enantiómero farmacologicamente activo do Ibuprofeno

Capítulo I – Introdução

1.1. Introdução e Enquadramento do Tema

A saúde pública é um dos compromissos primários para o bem-estar de uma sociedade. Assim, é forçoso referir que a contaminação dos cursos de água e lençóis freáticos representa uma das maiores contrariedades à condição de bem-estar. Sabemos que as estações de tratamento de águas residuais, entre outras entidades particulares, atuam localmente no sentido de eliminar os agentes nocivos presentes na água para consumo, até níveis apropriados à sua ingestão. No entanto, há compostos que não são eliminados, dado que nem todos são detetados eficazmente, com a agravante de que, entre estes, há alguns dos quais se desconhece os seus efeitos biológicos, mas apresentam um potencial tóxico. Nesse sentido, são de destacar os Produtos Farmacêuticos e de Cuidado Pessoal (PPCPs, do inglês *Pharmaceutical and Personal Care Products*), que vão sendo continuamente introduzidos no ambiente, podendo apresentar toxicidade e revelar um comportamento muito persistente, produzindo alterações no meio, as quais atribuímos, de modo erróneo, a causas naturais ⁽¹⁾. É de salientar, contudo, o recente despertar de atenção de alguns países para a deteção da presença de PPCPs em meio aquoso e para o estudo dos seus efeitos biológicos, mesmo sabendo que aquele tipo de resíduos se deposita no ambiente a um ritmo aparentemente ligeiro quando comparado com os resíduos industriais ou domésticos. Os PPCPs representam um vasto grupo de produtos, nos quais se incluem os fármacos, as pastas dentífricas, os protetores UV, entre muitos outros, e cada um deles pode apresentar múltiplas propriedades e funções, pelo que estamos perante um considerável leque de agentes químicos. Em geral, os PPCPs são fabricados de forma a manterem-se ativos até que a sua função específica seja realizada, pelo que normalmente tem carácter lipofílico e são biologicamente persistentes ⁽²⁾.

O ácido 2-(4-isobutilfenil) propanóico, vulgarmente conhecido como Ibuprofeno ($C_{13}H_{18}O_2$), é um composto farmacológico orgânico amplamente utilizado à escala global para combater alguns tipos de reumatismo, febre e a sensação de dor. Foi descoberto na década de 50 no Reino Unido, pelo Dr. Stewart Adams e pelos seus colaboradores, e patenteado em 1961. A sua comercialização iniciou-se na década de 70. Na atualidade, estima-se que a produção anual daquele fármaco é da ordem de milhares toneladas ^{(3) (4)}. O Ibuprofeno pertence ao grupo dos anti-inflamatórios não esteroides, sendo-lhe também reconhecidos os efeitos analgésicos e antipiréticos, ou seja, reduz a dor e a hipertermia, respetivamente. É, portanto, um fármaco muito importante, livre de prescrição médica, sendo a sua dose terapêutica entre 600 e 1200 mg/dia. O Ibuprofeno é caracterizado pela sua quiralidade, porém apenas um dos seus enantiómeros é considerado ativo, isto é, apenas o enantiómero denominado (S)-(+) produz os efeitos farmacológicos desejados. Embora o enantiómero (R)-(-) seja considerado inativo, a mistura racémica do Ibuprofeno é a forma de administração do fármaco ⁽³⁾. Os efeitos do Ibuprofeno são causados pela inibição de uma classe de enzimas designada por Ciclooxygenases (COX), as quais são responsáveis por catalisar a reação de síntese de Prostaglandinas. Ao inibir as enzimas COX por competição com o seu substrato natural e, assim, a síntese de Prostaglandinas, os seus efeitos na mediação de inflamações e na mediação da resposta à dor também são inibidos ⁽⁵⁾. Mais de 70% do Ibuprofeno administrado é metabolizado e os metabolitos resultantes da sua atuação no organismo são o Carboxi-Ibuprofeno e o Hidroxi-Ibuprofeno ou, por uma via metabólica alternativa, a sua conjugação com o ácido glicorónico, e são posteriormente excretados através da urina. Tanto o Ibuprofeno não metabolizado como os seus metabolitos possuem propriedades físico-químicas semelhantes, caracterizando-se pela sua mobilidade e persistência no meio ambiente. A porção de composto administrado que não é metabolizada, será posteriormente degradada por processos fotoquímicos ou biológicos, no meio

ambiente ⁽³⁾ ⁽⁴⁾ ⁽⁶⁾. Em termos estruturais, o Ibuprofeno é uma molécula relativamente pequena, contendo um anel aromático (benzeno) conjugado com um ácido propanoico ⁽⁷⁾.

Uma das formas de caracterizar o comportamento e migração de um determinado composto no meio ambiente é através do seu Coeficiente de Partição Octanol-Água, K_{ow} . Esta grandeza adimensional é definida pela razão das concentrações de um soluto em octanol e em água. A escolha do octanol, um álcool gordo, neste coeficiente, deve-se ao facto de este composto representar satisfatoriamente o material orgânico nos solos, apresentando a mesma proporção de carbono e oxigénio. O K_{ow} pode ser visto, então, como uma medida da lipofilicidade. Em particular, o Ibuprofeno apresenta um valor de $\log K_{ow}$ igual a 2.48, à temperatura ambiente e a pH neutro, o que confirma a sua afinidade para as gorduras e sugere a sua elevada mobilidade em meio aquoso ⁽⁶⁾.

Devido à constante introdução deste composto no meio ambiente e às suas propriedades, foram feitas análises em diversos rios, lagos e lençóis freáticos, as quais confirmam a presença de Ibuprofeno nalguns desses locais ⁽⁴⁾. Para agravar a situação, a utilização de Ibuprofeno continua em expansão, pelo que se torna imperativo identificar a sua presença em meio aquoso e perceber o seu real impacto nos ecossistemas, e que contribuições negativas para a saúde pública daí podem advir ⁽⁸⁾. Os métodos mais comuns para detetar Ibuprofeno são a Cromatografia Líquida, a combinação da Cromatografia Líquida com a Espectrometria de Massa, abreviada para LC-MS (*Liquid Chromatography – Mass Spectrometry*), a GC-MS (do inglês *Gas Chromatography – Mass Spectrometry*) com seletividade para enantiómeros e a combinação de Eletroforese Capilar com a Espectrometria de Massa ⁽³⁾ ⁽⁹⁾ ⁽¹⁰⁾ ⁽¹¹⁾. Em análises mais recentes, utilizou-se a HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) com *diode array detector* e com fluorescência ⁽¹²⁾. No entanto, estes métodos, embora sejam os mais comuns, não estão ao alcance de qualquer laboratório. Nesse sentido, surge a necessidade de desenvolver um mecanismo eficaz e económico, com vista a ser utilizado a larga escala, para detetar a presença deste composto em meio aquoso, para posterior remoção. Assim, neste trabalho pretende-se encontrar metodologias que permitam a deteção de muito baixas concentrações de Ibuprofeno em sistemas aquosos complexos, usando a abordagem de Língua Eletrónica por Espectroscopia de Impedância.

1.2. Descrição do Trabalho Desenvolvido

Esta dissertação encontra-se dividida em mais cinco capítulos. No **Capítulo II**, faz-se uma revisão bibliográfica sobre os conceitos teóricos e as metodologias utilizadas neste estudo, sendo apresentada a fundamentação para utilização de cada método. No **Capítulo III**, são descritos todos os procedimentos utilizados na aplicação dos métodos introduzidos no capítulo anterior, assim como os materiais e reagentes envolvidos nas diversas tarefas. Os resultados da caracterização dos filmes por Espectrofotometria de UV-Visível também serão tratados naquele capítulo. No **Capítulo IV**, é feita uma descrição do programa desenvolvido para automatizar e controlar remotamente a aquisição na Espectroscopia de Impedância, sendo apresentadas as razões para a escolha da plataforma de desenvolvimento do programa, a forma como o algoritmo foi desenvolvido, as suas características e um manual para o utilizador. A análise das medições obtidas por Espectroscopia de Impedância é feita no **Capítulo V**, sendo discutidos os resultados em função dos espectros de Capacitância, de Resistência e de Fator de Dissipação obtidos e da Análise de Componentes Principais, de modo a avaliar a funcionalidade de cada sistema sensorial desenvolvido e da aplicação conjunta. Por fim, no **Capítulo VI** constam as conclusões deste estudo.

Capítulo II – Conceitos Teóricos / Metodologias

O sensor de Ibuprofeno desenvolvido compreendeu o uso de diversas técnicas e equipamento. As técnicas requeridas para o desenvolvimento da Língua Eletrónica foram, essencialmente, a Espectroscopia de Impedância, a cargo do analisador *HAMEG Programmable LCR Bridge HM8118*, e a técnica de Camada-sobre-Camada (LbL) para a preparação de filmes finos sensoriais. Os dados adquiridos, pela combinação das técnicas mencionadas, foram examinados pelo método de Análise de Componentes Principais. Os conceitos teóricos indispensáveis à compreensão do funcionamento do sensor, assim como o aprofundamento das metodologias utilizadas, serão, de seguida, discutidos.

2.1. Língua Eletrónica

A um dispositivo que, por ação de uma determinada grandeza física, altere o seu comportamento, fornecendo um sinal elétrico ou ótico como resposta a esse estímulo, denominamos sensor. Se a grandeza física de *input*, ou seja, o estímulo que atua no dispositivo, for convertido noutra grandeza em *output*, que é a resposta do dispositivo, então chamamos de transdutor. Para ambos, o sinal de resposta poderá, ou não, representar uma medida da grandeza física do estímulo.

A necessidade de desenvolver técnicas para detetar determinados compostos em meio líquido, converge com o conceito de Língua Eletrónica, na qual um conjunto de unidades sensoriais não específicas, mas com grande sensibilidade, medem a resposta elétrica de um líquido a um determinado estímulo. Apesar de a informação adquirida por uma língua biológica ser processada no cérebro, ao passo que numa Língua Eletrónica essa informação é processada, por exemplo, por métodos estatísticos, existe uma analogia evidente entre ambos os tipos, que se prende com o facto de, dentro de certos limites, conseguirem distinguir uma determinada substância (ou um grupo de substâncias similares) das demais, envolvidas numa mistura. Esta analogia pretende ser ilustrada pela **Fig. 2.1**, em que, à esquerda, um cérebro de um indivíduo interpreta a(s) substância(s) que este está a provar como um sabor doce ("sweet"), enquanto, à direita, temos um gráfico com resultados obtidos por Língua Eletrónica de várias substâncias associadas pelo indivíduo aos sabores doce, amargo ("bitter") e azedo ("sour").

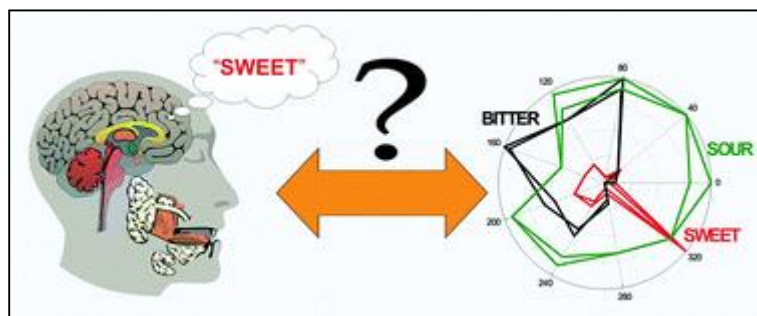


Fig. 2.1 – Exemplos de informação obtida por uma língua humana, processada no cérebro, e informação obtida por uma Língua Eletrónica, processada por métodos estatísticos ⁽¹³⁾

Embora a motivação deste estudo seja essencialmente a saúde pública, quer em termos de proteção, como de prevenção, a Língua Eletrónica revela, do mesmo modo, um vasto potencial para o controlo de qualidade na produção industrial e laboratorial. De facto, grande

parte dos avanços nesta área, com a ressalva de que nem todas as Línguas Eletrônicas medem a mesma grandeza física, tem surgido com a finalidade de melhorar a qualidade de determinados produtos, por via da detecção de compostos indesejáveis.

Entre as Línguas Eletrônicas, as mais relevantes são aquelas que se baseiam em medições eletroquímicas, como a Voltametria Cíclica, a Potenciometria, a Amperometria, etc., e outras baseadas na Espectroscopia de Impedância ⁽¹⁴⁾. As primeiras são aquelas que a partir de a aplicação de uma determinada Diferença de Potencial elétrico, fornecem um valor da Corrente na amostra, e cujos sensores consideram o fenómeno da interface entre o eletrodo e a solução. Diversos estudos revelam o potencial deste tipo de línguas eletrônicas, sobretudo na classificação de alimentos líquidos, como diferentes tipos de vinho, distinguindo diferentes castas de uva e a sua origem, de sumo, de leite, de azeite ou até mesmo de água ^{(15) (16) (17) (18)}. Na mesma linha de interesse, mas fornecendo medidas de Impedância elétrica, tanto da sua componente real como da componente complexa, os resultados obtidos em diversos estudos sobre Línguas Eletrônicas baseadas na Espectroscopia de Impedância demonstram a eficácia desta técnica. Embora os sensores que medem a resposta elétrica da solução possam variar em material e arquitetura e, por conseguinte, em termos de sensibilidade e afinidade para com o composto que desejamos detetar, esta técnica fornece informação sobre o comportamento elétrico da amostra quando lhe é aplicada uma dada tensão, a uma frequência de trabalho fixa para a qual tinha revelado previamente ter uma boa resposta ^{(14) (19) (20)}. O foco deste trabalho irá recair sobre este tipo de Língua Eletrônica.

À região sensorial da Língua Eletrônica podem ser acoplados filmes finos de determinados materiais, que permitem aumentar a sua sensibilidade. Sumariamente, estes materiais são depositados à superfície do sensor, formando filmes nanoestruturados, sendo geralmente adsorvidos sobre o sensor em camadas duplas, em que cada camada apresenta carga elétrica oposta. Para o efeito, as monocamadas são depositadas alternadamente. A escolha dos materiais utilizados na produção de filmes é muito importante, pretendendo-se que ofereçam maior sensibilidade ao sensor e, nalguns casos, melhorem a sua seletividade para com um composto específico ^{(14) (19) (21)}.

Uma das principais vantagens deste tipo de tecnologia é permitir o rápido acesso a informação em líquidos simples ou complexos, o que aliado à relativa facilidade de produção, permite perspetivar a utilização das Línguas Eletrônicas à escala global num futuro próximo.

Os primeiros registos de uma tecnologia de análise de líquidos por via de sensores datam de 1980. Uma década mais tarde, as contribuições de Hayashi e seus colaboradores, assim como de Kiyoshi Toko *et al.*, permitiram desenvolver uma Língua Eletrônica que possibilitou o reconhecimento de sabores (ácido, doce, etc.) pela sua qualidade e intensidade. A região sensorial era, então, constituída por membranas de lípidos e polímeros ^{(14) (18)}. Desde então, inúmeras contribuições científicas têm sido publicadas, tendo sido testados diversos materiais para as heteroestruturas sensoriais, assim como diferentes princípios de aquisição, grandezas medidas e moléculas-alvo.

Apesar de este ser um princípio de aquisição que oferece boa sensibilidade, a Espectroscopia de Impedância só foi usada pela primeira vez em 2002 para o efeito de Língua Eletrônica, utilizando-se eletrodos Interdigitais revestidos por filmes ultrafinos na análise de líquidos. Para além da característica mencionada, esta técnica permite a análise de materiais ou dispositivos sem carga elétrica e apresenta a vantagem de não ser necessário um eletrodo de referência para efetuar as medições ⁽¹⁴⁾.

Para além dos princípios de aquisição mencionados anteriormente, há ainda línguas eletrônicas baseadas em Fluorescência, em Análises de Fluxo (para soluções não estáticas), na

Combinação com outras funções sensoriais e na integração desta tecnologia em transístores de efeito de campo (FETs) ⁽¹⁴⁾.

2.2. Filmes finos: heteroestruturas sensoriais

Uma das formas encontradas pelos investigadores para aumentar a sensibilidade das Línguas Eletrónicas foi “revestir” a sua região sensorial com substâncias eletricamente ativas ou que aumentem a capacidade para interagir com a molécula-alvo. Para o efeito, estas substâncias são previamente selecionadas e adsorvidas sob a camada sensível de um elétrodo, formando filmes finos nanoestruturados. As substâncias selecionadas podem ser de vários tipos, como polieletrólitos, lipossomas, entre outros, e conferem propriedades físicas diferentes ao sensor, podendo aumentar a sua especificidade. O substrato onde os filmes são adsorvidos deve ser sólido, como vidro, metal, quartzo ou outro material ⁽¹⁹⁾.

Para o processo de elaboração dos filmes são utilizadas diferentes técnicas, das quais se destacam a de Langmuir-Blodgett (LB) e a de Camada-sobre-Camada (LbL, do inglês *Layer-by-Layer*). As estruturas obtidas encontram-se ilustradas na **Fig. 2.2**, sendo perceptível a diferença de organização do produto final em cada uma destas técnicas.

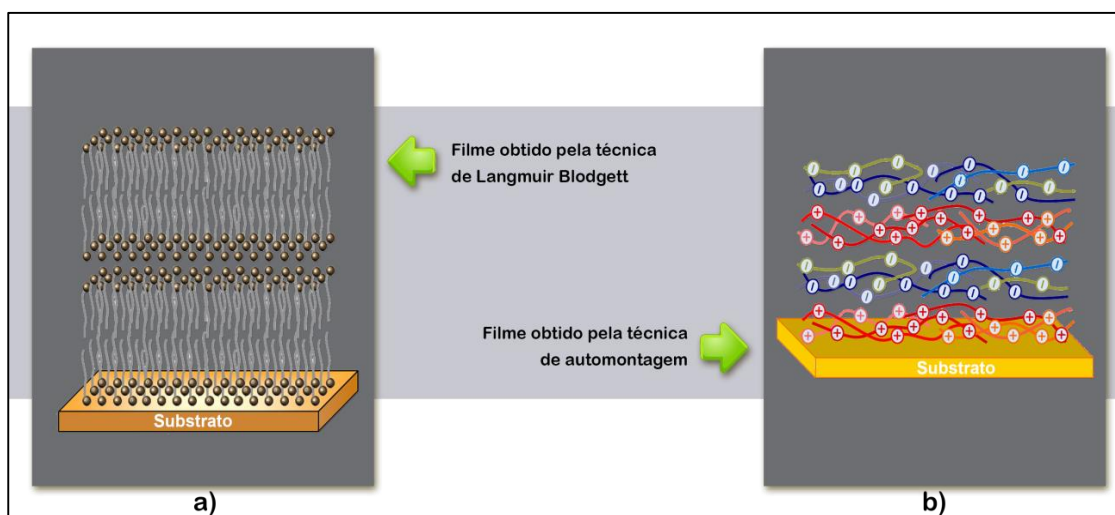


Fig. 2.2 - Filmes Finos obtidos pelas técnicas de: a) Langmuir-Blodgett; b) Auto-montagem, designação pela qual também é conhecida a Camada-sobre-Camada ⁽¹⁹⁾

A técnica Langmuir-Blodgett prima sobretudo pelo rigor, permitindo a produção de filmes finos altamente organizados, com controlo de espessura, pelo que requiere algum equipamento sofisticado. Todavia, apresenta-se um pouco limitada na aplicação a substratos com diferentes morfologias. Existe, então, este compromisso entre a necessidade de obter filmes por um processo simples e viável, do ponto de vista económico e laboratorial, e o nível de organização molecular das bicamadas ^{(19) (21) (22)}.

Já a técnica LbL, contrariamente à Langmuir-Blodgett, prima pela relativa simplicidade e baixa necessidade de recursos, permitindo controlo de espessura e composição ⁽²³⁾. Na prática, passa pela imersão do substrato numa solução de um dos elementos que desejamos, seguida de nova imersão numa solução de outro elemento com afinidade para o primeiro, formando uma bicamada. A afinidade entre os dois elementos é, em geral, de natureza eletrostática, usando-se para isso uma solução de pH mais alcalino e outra de pH mais ácido. O tempo de imersão pode variar, mas deve ser suficiente para que se garanta a adsorção de cada elemento e o rearranjo

molecular. Repete-se o processo descrito acima, até se obter o número de bicamadas conveniente, que é a forma de controlar a espessura do filme. Este processo, até um determinado limite de bicamadas, permite aumentar sucessivamente a sensibilidade do sensor ^{(24) (25)}.

Selecionando, então, um substrato apropriado para o sensor, este é mergulhado numa solução catiónica, durante um tempo pré-definido. As moléculas presentes na solução catiónica são, assim, adsorvidas no corpo do sensor. Retira-se o sensor e segue-se um processo de enxaguamento, em que o substrato é mergulhado no solvente da solução anterior. De seguida, o substrato, já com uma monocamada catiónica, é introduzido numa solução aniónica, durante outro período de tempo pré-determinado. Por força das interações eletrostáticas, as moléculas negativas aderem à monocamada positivamente carregada, formando uma bicamada sobre o substrato. Repete-se o enxaguamento, tendo novamente em atenção que a solução de lavagem deve ser constituída pelo solvente da solução anteriormente usada. O filme fino, composto, assim, por uma bicamada, deve secar naturalmente ou pode acelerar-se a secagem utilizando azoto. Em função da espessura que se queira para o sensor, todo o procedimento descrito, à exceção da secagem final, deve ser repetido, tantas vezes quantas bicamadas desejemos.

Deve-se acrescentar que a tecnologia de Língua Eletrónica goza de grande versatilidade, dado que o leque de elementos a utilizar nos filmes é bastante diversificado.

2.3. Espectroscopia de Impedância aplicada a sensores

Tal como num circuito elétrico em corrente contínua (DC), também num circuito em corrente alternada (AC) existem elementos que se opõem a um fluxo de cargas, daí que surja a necessidade de englobar os conceitos de Resistência e de Armazenamento de energia.

A Resistência elétrica provoca a dissipação de energia, sob a forma de calor. Está diretamente relacionada com a Resistividade de um material, que é uma propriedade física intrínseca ao mesmo. Já os elementos de Armazenamento de energia, associados a campos elétricos e a campos magnéticos, designam-se, respetivamente, de Condensador e Bobina. Quando uma tensão é aplicada a esses elementos, a carga é armazenada; quando a tensão se anula, a carga armazenada é novamente fornecida ao circuito. A este tipo de “resistência” elétrica, damos o nome de Reactância. A grandeza física que engloba estes dois conceitos, a Resistência e a Reactância, é a Impedância. Este termo foi introduzido, em 1886, por Oliver Heaviside, tendo sido representado na forma complexa, pela primeira vez, em 1893, por Arthur E. Kennelly. Estes conceitos podem ser compreendidos pela análise de um circuito em série dos elementos Resistência, Condensador e Bobina, tal como na **Fig. 2.3**.

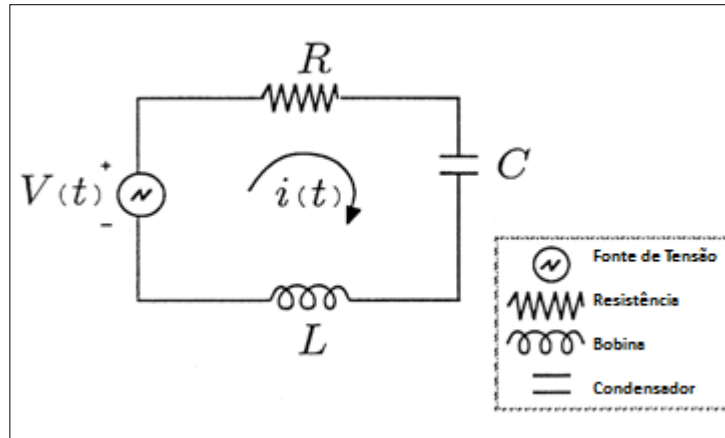


Fig. 2.3 - Circuito RLC série: uma Fonte de Tensão Alternada em série com uma Resistência (R), uma Bobina (L) e um Condensador (C) ⁽²⁶⁾

Analisando um ramo de um circuito AC idêntico ao que está representado na **Fig. 2.3**, onde uma Resistência (R), uma Bobina (L) e um Condensador (C) se encontram em série, a Corrente instantânea que atravessa estes elementos pode ser representada por $i(t) = I \cdot \cos(\omega t)$.

Para a Diferença de Potencial elétrico v , em dado instante t , é válida a seguinte igualdade:

$$v(t) = v_R(t) + v_L(t) + v_C(t), \quad (2.3.1)$$

onde v_R , v_L e v_C representam, respetivamente, as quedas de Tensão em R, L e C. Estas podem ser descritas por:

$$v_R(t) = R \cdot i = R \cdot I \cdot \cos(\omega t) \quad (2.3.2)$$

$$v_L(t) = L \cdot \frac{di}{dt} = -\omega \cdot L \cdot I \cdot \sin(\omega t) = \omega \cdot L \cdot I \cdot \cos\left(\omega t + \frac{\pi}{2}\right) \quad (2.3.3)$$

$$v_C(t) = \frac{q}{C} = \left(\frac{1}{\omega C}\right) I \cdot \sin(\omega t) = \left(\frac{1}{\omega C}\right) I \cdot \cos\left(\omega t - \frac{\pi}{2}\right). \quad (2.3.4)$$

Adaptando a Lei de Ohm para circuitos AC, vem:

$$Z = \frac{v}{i}, \quad (2.3.5)$$

em que Z poderia ser substituído por R , num circuito puramente resistivo.

Através da expressão (2.3.5) podemos facilmente inferir que a corrente que atravessa o circuito está em fase com a queda de tensão no elemento resistivo. Relativamente aos elementos indutivo e capacitivo, verificamos que a fase entre a corrente e as quedas nestes elementos diferem de $\phi = \pm \frac{\pi}{2}$, correspondendo a um atraso para o primeiro elemento e a um adiantamento para o segundo. A amplitude da Impedância vem dada, então, pela razão entre a amplitude da Tensão e a amplitude da Corrente elétrica.

Partindo da relação trigonométrica genérica:

$$a \cdot \cos(x) + b \cdot \sin(x) = A \cdot \cos(x + \phi) \quad (2.3.6)$$

em que $A = \sqrt{a^2 + b^2}$ e $tg(\phi) = -\frac{b}{a}$, podemos efetuar o seguinte raciocínio:

$$v(t) = v_R(t) + v_L(t) + v_C(t) = R \cdot I \cdot \cos(\omega t) + \left(\frac{1}{\omega C} - \omega \cdot L\right) \cdot I \cdot \sin(\omega t) \quad (2.3.7)$$

$$\Leftrightarrow v(t) = V \cdot \cos(\omega t + \phi) \quad (2.3.8)$$

com $V = I \cdot \sqrt{R^2 + \left(\omega \cdot L - \frac{1}{\omega C}\right)^2}$ e $\phi = \arctg\left(\frac{\omega \cdot L - \frac{1}{\omega C}}{R}\right)$.

Fazendo $\omega \cdot L = X_L$ e $\frac{1}{\omega C} = X_C$, em que os termos X_L e X_C se denominam de reactância indutiva e reactância capacitiva, respetivamente, e substituindo em (2.3.5), vem:

$$Z = \sqrt{R^2 + (X_L - X_C)^2}, \text{ a definição de Impedância num circuito RLC série.} \quad (2.3.9)$$

Ora, como se pode constatar pela própria designação, a Espectroscopia de Impedância é uma técnica que permite obter medidas desta grandeza física numa larga gama de frequências, sendo, portanto, um instrumento de análise da resposta elétrica dos materiais. Esta ferramenta analítica é de particular importância na monitorização de corrosão de materiais, na análise de baterias, semi-condutores, células de combustível, sistemas biológicos ou biomédicos e no estudo de mecanismos eletroquímicos ⁽²⁷⁾.

Desde os primórdios da Engenharia Eletrotécnica que a Impedância é usada na caracterização da resposta elétrica de circuitos, essencialmente com as contribuições de Robert H. Cole e Kenneth S. Cole, fundamentais no estudo teórico da relaxação dielétrica de materiais. Mais tarde, a Impedância tornou-se objeto de estudo na análise teórica de sistemas iónicos e semi-condutores, entre outros dispositivos. Já o estudo teórico de J. H. Sluyters sobre eletrólitos em meio aquoso pela análise da Impedância foi pioneiro, dando mais tarde origem aos trabalhos experimentais de Sluyters e Oomen, em 1960. Relativamente a materiais sólidos, a primeira publicação relevante, da autoria de Bauerle, data de 1969. O foco deste estudo estava na determinação da condutividade de eletrólitos sólidos. Desde aí, inúmeras publicações e outros estudos de referência têm surgido, pelo que a Espectroscopia de Impedância se tornou uma ferramenta imprescindível nas disciplinas supracitadas ⁽²⁸⁾. Nesta técnica é aplicada uma Tensão alternada entre dois elétrodos, ajustável em forma de onda, frequência e amplitude. Estabelecido o contacto entre os elétrodos e a amostra que pretendemos caracterizar, a Corrente elétrica é medida e a sua fase é comparada com a fase da Tensão aplicada. Os valores obtidos nesta diferença de fase determinam os valores de Impedância. Usualmente designa-se de Analisador de Impedância o equipamento usado nesta caracterização de materiais ou circuitos. Fazendo, então, variar a frequência do sinal aplicado, mantendo a forma de onda e amplitude, estamos em condições de obter espectros de Impedância característicos de cada amostra.

Tendo em conta que o sensor utilizado neste estudo possui material dielétrico, que neste caso em particular é vidro, a separar duas placas ou bandas condutoras, os elétrodos, torna-se claro que esse sistema sensorial, em circuito elétrico, se comporta como um Condensador. Ora, devido a esse facto, ocorre dissipação de Energia Eletromagnética inerente ao funcionamento desse componente eletrónico, por Efeito de Joule, manifestando-se, portanto, sob a forma de Calor. Como a Resistência de isolamento dos dielétricos varia inversamente com a sua Temperatura, o aumento desta origina maior intensidade de corrente e, consequentemente, maiores perdas. Em corrente alternada, ocorrem ainda outro tipo de perdas, devido a um fenómeno denominado Histerese Dielétrica, que está relacionado com os atrasos na orientação das moléculas polares do material dielétrico, que também resultam no aumento da Temperatura desse material. Assim, num Condensador em regime AC, a corrente que o atravessa deveria estar adiantada de $\phi = \frac{\pi}{2}$ devido à Reactância Capacitiva, porém, por efeito da variação de Potencial resultante da queda da Resistência do dielétrico, existe uma componente da Corrente

que se encontra em fase com a Tensão aplicada. Por esse motivo, o sistema sensorial corresponde, na realidade, a um circuito RC paralelo. Esta constatação é corroborada pelo Analisador de Impedância, que permite determinar o circuito equivalente de um determinado material ou dispositivo, fornecendo essa informação ao utilizador. Em consequência, o ângulo da Corrente total desvia-se de $\frac{\pi}{2}$. Esse desvio corresponde ao ângulo de perdas, δ , e a tangente desse ângulo, $\text{tg } \delta$, é chamada de Fator de Dissipação, que permite caracterizar a qualidade de um dielétrico, na medida em que um dielétrico é mais eficaz a executar as suas funções, quanto menor for o seu Fator de Dissipação. Assim, um dielétrico de boa qualidade apresenta $\text{tg } \delta \approx \delta$. Através da representação vetorial das componentes de Impedância, o Fator de Dissipação ou Tangente de Perdas, para um circuito RC paralelo, pode ainda ser definido por:

$$\text{tg } \delta = \frac{R}{|X_C|} = \omega C R \quad (2.3.10)$$

Como se pode observar pela igualdade acima, o Fator de Dissipação depende da frequência angular ω e, por sua vez, da frequência do sinal. Por essa razão, a obtenção dos espectros de Fator de Dissipação do sensor, em diferentes soluções, é de interesse neste estudo, pois oferece uma forma alternativa de caracterizar o comportamento elétrico de cada amostra.

2.4. Análise de Componentes Principais

A Análise Multivariada é o termo comum para designar os métodos estatísticos que permitem a análise simultânea de um conjunto de variáveis. Ao contrário dos métodos de Análise Univariada que apenas permitem a análise de cada variável individualmente, os métodos de Análise Multivariada permitem analisar a performance conjunta das variáveis, determinando a contribuição de cada uma na presença das restantes. Desse modo, não ignoram alguma informação importante, como a correlação entre as variáveis, pelo que são uma ferramenta "poderosa" de interpretação de dados em contextos de maior complexidade.

Uma das formas de se poder tirar ilações acerca dos resultados fornecidos pelo sensor é através da técnica de Análise de Componentes Principais (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*). Este é um método de Análise Multivariada muito utilizado em diversas áreas, como em engenharia mecânica, em química, em geologia, em meteorologia, no processamento de sinais elétricos, entre muitas outras. A PCA permite converter um conjunto de valores de variáveis que podem ser estatisticamente dependentes entre si, num conjunto de valores de variáveis não correlacionadas – as Componentes Principais – à custa de uma transformação ortogonal, desde que os dados originais sigam uma distribuição normal. No fundo, trata-se de saber se existe e qual é a base que, sendo uma combinação linear da base original, melhor represente o nosso conjunto de dados. Esta técnica permite obter uma representação gráfica, através da qual podemos identificar padrões na forma como os dados estão geograficamente distribuídos. Esses padrões dão informação acerca dos dados originais que à primeira vista podia parecer pouco clara ou redundante. Quando corretamente interpretados, os padrões observados permitem-nos fazer inferências acerca dos dados recolhidos originalmente, ou fazer modelos que permitam antever determinados fenómenos em futuras medições. É conveniente frisar que este procedimento matemático é sensível à escala das variáveis originais. Para além das aplicações referidas, a PCA é ainda muito utilizada para reduzir o volume de dados adquiridos numa determinada medição, uma vez que o número de componentes obtidas é sempre menor ou igual ao número de variáveis iniciais ^{(29) (30)}.

No primeiro procedimento da PCA, pretende-se obter a matriz quadrada e simétrica que contém os valores de variância e covariância das variáveis em estudo, a matriz de Covariância S ($p \times p$). Posteriormente, é possível reduzi-la a uma matriz diagonal L , tal que:

$$U'SU = L, \quad (2.4.1)$$

onde U é a matriz ortogonal dos Vetores Característicos e U' a sua inversa.

Os elementos diagonais l_1, \dots, l_p de L são denominados de Valores Próprios ou Raízes Características de S . Estes podem ser obtidos pela equação característica:

$$|S - lI| = 0, \text{ onde } I \text{ representa a matriz Identidade.} \quad (2.4.2)$$

Por ora, para determinar os Vetores Característicos u_i , que constituem a matriz U , resolvem-se as seguintes equações:

$$|S - lI| t_i = 0, \quad (2.4.3)$$

$$u_i = \frac{t_i}{\sqrt{t_i' t_i}}. \quad (2.4.4)$$

Os eixos das novas coordenadas são agora descritos pelos Vetores Característicos u_i . Deste modo, estamos em condições de transformar as variáveis correlacionadas x_1, \dots, x_p nas variáveis não correlacionadas z_1, \dots, z_p , as Componentes Principais, fazendo:

$$Z = U'[X - \bar{X}], \quad (2.4.5)$$

onde X e \bar{X} representam as matrizes ($p \times 1$) das observações das variáveis originais e das suas médias, respectivamente. Por conseguinte, para determinar as coordenadas (z-scores) da i -ésima Componente Principal z_i , de média zero e variância l_i , calcula-se:

$$z_i = u_i' [X - \bar{X}], \quad (2.4.6)$$

que nos permitem, por fim, obter uma representação gráfica que expressa de maneira mais satisfatória os dados originais ⁽³¹⁾.

Deste modo, pretende-se que os resultados obtidos por PCA permitam uma análise mais robusta do que aqueles que são obtidos em primeira instância, em que é feita apenas a análise individual de cada sistema sensorial e de cada grandeza medida.

Capítulo III – Procedimentos Experimentais

Neste capítulo são descritos os processos experimentais envolvidos na realização deste estudo. Conforme foi explicado nos capítulos anteriores, o desenvolvimento deste estudo envolveu diferentes metodologias. Inicialmente, foi desenvolvido um programa informático para automatizar o processo de aquisição de dados. Findo o desenvolvimento do programa, foram produzidos em laboratório filmes finos para o sensor, pela técnica de Camada-sobre-Camada, e foram, então, preparadas as soluções com diferentes concentrações de Ibuprofeno e de Cloreto de Sódio, em água ultrapura. A caracterização dos filmes foi feita pela técnica de Espectrofotometria de Ultravioleta-Visível. Finalmente, reunidas as condições necessárias, efetuou-se as medições da resposta elétrica das soluções de Ibuprofeno e das soluções de Cloreto de Sódio, por Espectroscopia de Impedância. Importa, então, expor os procedimentos e métodos utilizados, assim como o equipamento, materiais e reagentes necessários para a execução das diferentes tarefas, o que será feito neste capítulo. A forma como foi desenvolvido o programa de automatização da Análise de Impedância e o seu funcionamento serão explanados no Capítulo IV. A esquematização da evolução do projeto pode ser observada na **Fig. 3.1**, sob a forma de fluxograma.

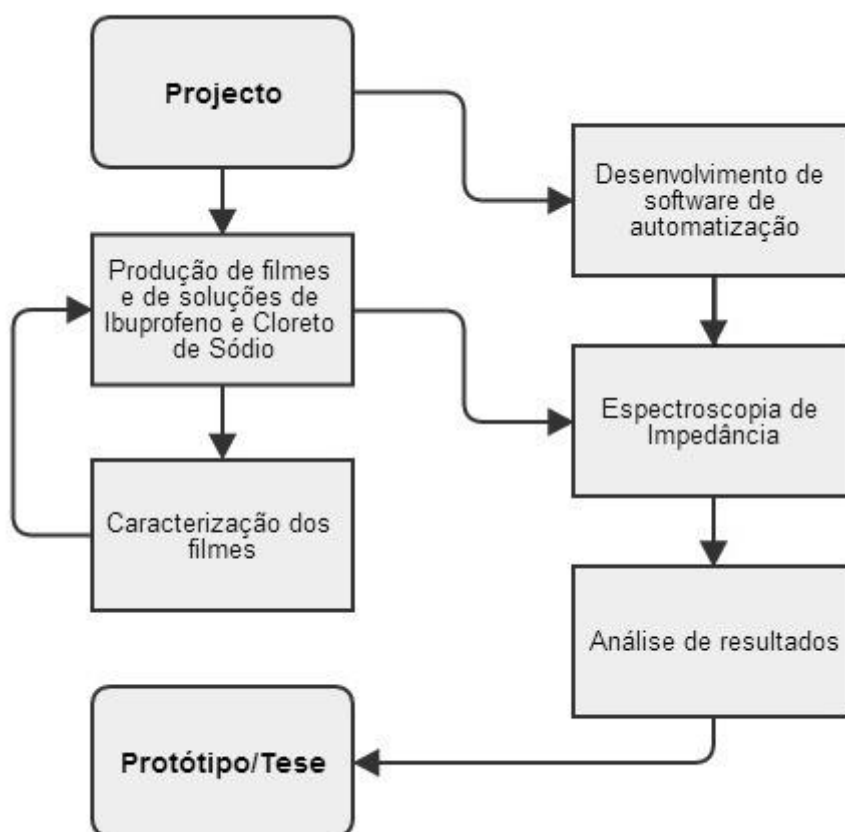


Fig. 3.1 – Fluxograma das atividades inerentes à realização desta tese

3.1. Preparação de filmes finos de (PAH/MWCNT)₅, (PAH/PAZO)₅ e (PPV/MWCNT)₁₀

O sensor utilizado neste trabalho é constituído por um suporte retangular de vidro BK7, onde foi depositado por fotolitografia um material condutor, distribuído em duas bandas laterais,

os eléctrodos. Cada banda apresenta um conjunto de treze “dedos” dispostos perpendicularmente às bandas e paralelamente entre si, sem que os de uma banda estabeleçam contacto com os da outra, daí que este tipo de eléctrodo se designe por Interdigitado. Por esse motivo, em circuito eléctrico, este componente comporta-se como um condensador. A **Fig. 3.2** corresponde a uma fotografia de um sensor Interdigitado idêntico aos que foram utilizados neste estudo. O material condutor é óxido de índio-estanho, apresentando uma condutividade aproximada de 104 S/cm. Foi sobre este substrato sólido que foram adsorvidos os compostos que formam as bicamadas dos filmes, pelo processo de LbL. Como já foi referido no Capítulo 2.2., este é um método que permite o controlo de espessura do filme, em função do número de bicamadas que se deseje adsorver. Tendo em conta que as monocamadas aderem entre si por interação eletrostática, os compostos seleccionados para a produção de filmes finos devem apresentar carga oposta, pelo que foram escolhidos os seguintes:

- para a Monocamada Catiónica: poli (cloreto de alilamina) (abreviadamente PAH) e poli (p-fenilenovinileno) (PPV);

- para a Monocamada Aniónica: Nanotubos de Carbono de Paredes Múltiplas (MWCNT) funcionalizados com o grupo carboxilo (COOH-) e poli (1-(4-(3-carboxi-4-hidroxifenilazo)-benzenesulfonamida)-1,2-etanodiol) (PAZO).

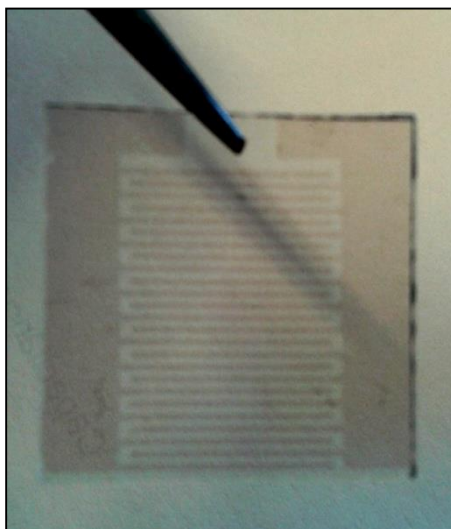
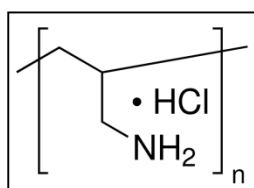


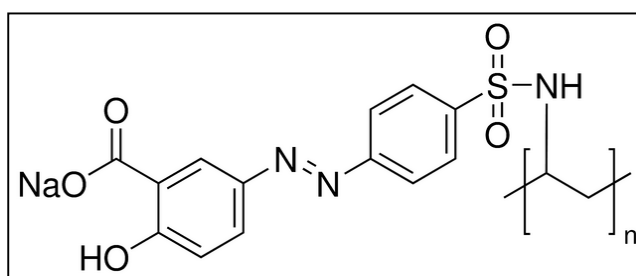
Fig. 3.2 – Exemplar de um Sensor Interdigitado utilizado neste estudo

As escolhas do PAH e do PAZO na produção de filmes finos prendem-se com o facto de serem compostos poliméricos estudados pelo grupo de **Sistemas Moleculares Funcionais do CEFITEC**, sendo já conhecidas as suas cinéticas de adsorção e tendo sido comprovada a sua eficiência em aplicações semelhantes às deste estudo. O PAH é um polieletrólito catiónico, cujo monómero contém um grupo NH_3^+ ligado ao contra-íão cloreto, Cl^- , que se dissociam em meio polar. É, portanto, uma longa cadeia polimérica de unidades ionizáveis, que apresenta uma massa molar por monómero de 93,56 g/mol ^{(19) (32)}. O PAH utilizado neste estudo foi adquirido à *Aldrich*. O seu monómero pode ser visualizado na **Fig. 3.3-a**. Este composto foi dissolvido em água ultrapura, em concentração de 10^{-2} M, solução utilizada na produção dos filmes onde este composto foi interveniente. A água ultrapura utilizada nesta e nas demais soluções foi obtida por um sistema da *Millipore Corporation*, é do tipo padrão Milli-Q e apresenta uma Resistividade de 18.2 M Ω .cm a 25 °C. Relativamente ao polieletrólito PAZO, as suas propriedades eléctricas

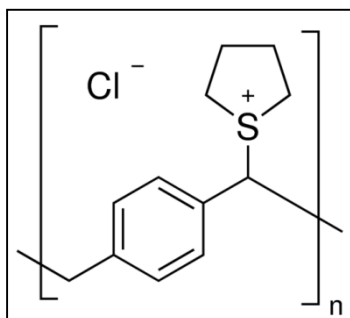
isolantes advêm fundamentalmente das ramificações laterais de cada um dos monómeros da cadeia polimérica. Estas são constituídas por dois radicais fenil, vulgo anéis aromáticos, ligados por átomos de azoto em ligação dupla (N=N), sendo portanto o que se designa por um azobenzeno. Por sua vez, ligado a um dos anéis da ramificação lateral do monómero, há um grupo carboxilato (COO⁻), sendo a sua carga neutralizada pelo contra-íão sódio, Na⁺. Contudo, em meio aquoso, o contra-íão dissocia-se, conferindo a solubilidade e as propriedades polieletrólíticas ao PAZO. A ramificação lateral é ainda um grupo cromóforo, pois confere ao polieletrólito uma cor semelhante ao âmbar ⁽¹⁹⁾. A massa molar do monómero do PAZO é 369,33 g/mol. Para este estudo, o composto foi adquirido à *Aldrich* e o seu monómero pode ser visualizado na **Fig. 3.3-b**. Por sua vez, foi dissolvido em água ultrapura, numa concentração de 10⁻² M.



a)



b)



c)

Fig. 3.3 – Estrutura química do monómero de:

- a) poli (cloreto de alilamina) (PAH);**
- b) poli (1-(4-(3-carboxi-4-hidroxifenilazo) benzenesulfonamida)-1,2-etanodiil) (PAZO);**
- c) poli (cloreto de tetrahidrotiofeno de xililideno) (PTHT).**

Estas figuras foram retiradas do [website](#) do fornecedor.

Outro dos compostos selecionados para a produção de filmes foi, como referido, o PPV. Este é um polímero semi-condutor orgânico, que pode, no entanto, alterar as suas propriedades

físicas e elétricas se lhe forem adicionados grupos funcionais. Dessa forma, o PPV pode adquirir eletroluminescência ou pode até ser “dopado” de forma a melhorar a sua condutividade. Para além dessas propriedades, os filmes finos de PPV têm a particularidade de apresentar uma estrutura cristalina altamente ordenada ⁽³³⁾. Apesar destas características, no fabrico de filmes pela técnica de *LbL* é necessário que os compostos que formam as bicamadas estejam em solução, todavia o PPV é insolúvel em água. Por esse motivo, recorre-se a um processo químico denominado de Rota do Percursor Solúvel. Nesse processo, o seu precursor solúvel em água, o poli (cloreto de tetrahidrotiofeno de xililideno) ou alternativamente PTHT, é convertido termicamente em PPV, a uma temperatura de 110 °C, por eliminação do grupo tetrahidrotiofeno ^{(34) (35) (36)}. O PTHT foi adquirido à Aldrich. O monómero de PTHT apresenta uma massa molar de 226,76 g/mol e a sua estrutura química pode ser observada na **Fig. 3.3-c**. A solução destinada à produção dos filmes é constituída por 2,265 mL de composto dissolvido em 25 mL de Água ultrapura.

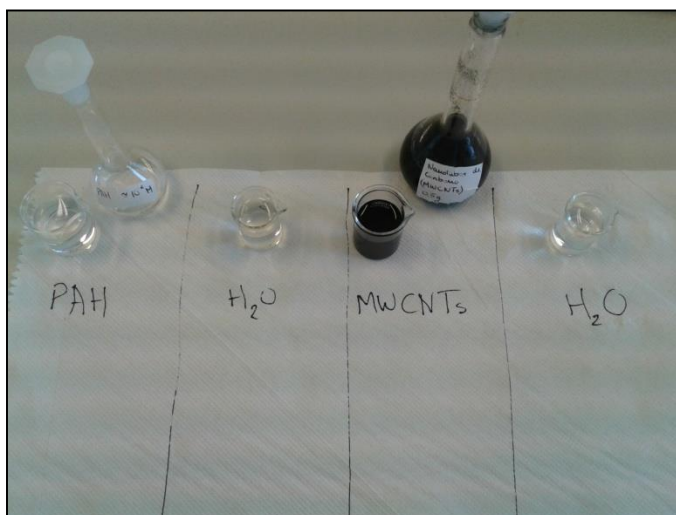
A escolha dos Nanotubos de Carbono para a produção de filmes relaciona-se com as suas propriedades elétricas. Os Nanotubos de Carbono podem ser divididos em duas categorias: Nanotubos de Parede Única (SWCNT, do inglês *Single-Wall Carbon NanoTubes*) e Nanotubos de Múltiplas Paredes (MWCNT, de *Multi-Wall Carbon NanoTubes*). Enquanto os primeiros são constituídos por uma única camada cilíndrica de átomos de carbono, os demais são formados por vários cilindros concêntricos. Os Nanotubos de Carbono são constituídos, na verdade, por uma camada única de grafite, o grafeno, que se enrola formando uma estrutura cilíndrica. A instabilidade da grafite à escala nanométrica é a razão para o encerramento da estrutura, que adquire o formato de um tubo. As ligações entre os átomos de carbono são covalentes simples e, conforme o ângulo pelo qual o grafeno é enrolado, os Nanotubos de Carbono podem adquirir diferentes configurações, o que os pode tornar melhores condutores elétricos ou mais dielétricos, podendo ainda variar outras propriedades físicas, como por exemplo, o Módulo de Young. No caso dos MWCNT, cada cilindro pode configurar-se de maneira diferente, pelo que os Nanotubos podem apresentar propriedades elétricas intermédias. Os Nanotubos podem ainda ligar-se a outros compostos, pelo que apresentam grande versatilidade ⁽³⁷⁾. Esse é um fator importante, pois é desejável que os Nanotubos se encontrem ligados a um grupo com carga elétrica negativa, que facilite a sua adesão à monocamada carregada positivamente, no fabrico das heteroestruturas sensoriais. Por esse motivo, os MWCNT adquiridos foram previamente funcionalizados com um grupo carboxilo (-COOH), que lhes confere carga elétrica negativa. Foram encomendados à Timesnano, apresentando uma pureza superior a 95% e um diâmetro que pode variar entre 8 e 15 nm. Tendo em conta a insolubilidade dos nanotubos em água, o colóide utilizado no fabrico de filmes foi obtido pela adição de 500 mg de MWCNT a 30 mL de água ultrapura, permanecendo num banho de ultrassons durante uma hora, conforme tinha sido efetuado no estudo de Jackeline B. Brito *et al.*, no qual também foram produzidos filmes pela técnica *LbL* ⁽³⁸⁾.

Para este estudo, foi planeada a produção de três filmes, que resultam de algumas combinações possíveis entre os compostos apresentados. O primeiro filme é constituído por 5 bicamadas adsorvidas sobre o sensor e serão constituídas por PAH e MWCNT, recebendo a designação de (PAH/MWCNT)₅. Os segundo e terceiro filmes são de (PAH/PAZO)₅ e (PPV/MWCNT)₁₀. Deste modo, depois de preparadas as soluções de PAH, PAZO, PTHT e MWCNT conforme foi descrito acima, reúne-se as condições para produzir os filmes pela técnica de Auto-Montagem, que requereu o uso de luvas, óculos de proteção e de uma pinça (preferencialmente de plástico para não danificar o sensor), dada a natureza irritante dos compostos PAZO e PTHT. Para isso, na produção de cada filme, seguiu-se o seguinte procedimento, que se encontra convenientemente enumerado:

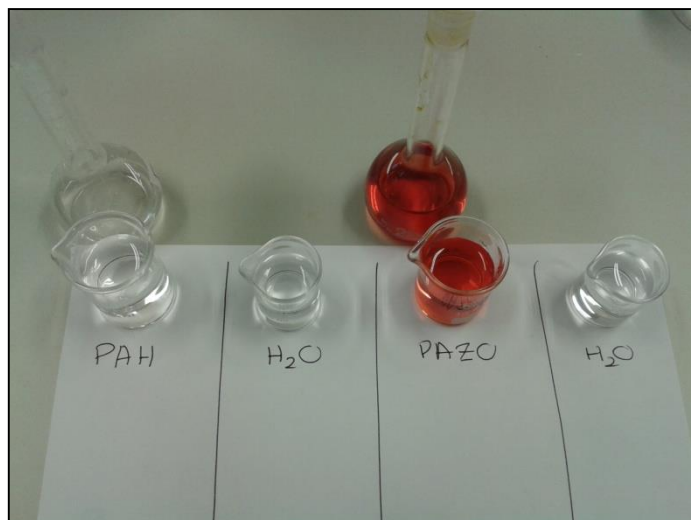
Procedimentos Experimentais

- I. Colocar as soluções dos dois compostos, para a camada catiónica e para a camada aniônica, em gobelés separados de 10 mL e o solvente de cada um deles em gobelés de 5 mL. Neste estudo, o solvente foi sempre água ultrapura;
- II. Ordenar os gobelés na bancada de trabalho da seguinte forma: Solução Catiónica, Solvente do Composto Catiónico, Solução Aniônica, Solvente do Composto Aniônico. Neste estudo, foram produzidos três filmes, tendo a bancada de trabalho de cada um sido fotografada, como se pode observar nas **Fig. 3.4-a, -b e -c**.
- III. Com a ajuda de uma pinça, pegar no sensor pela região não condutora (fora das bandas condutoras e dos seus “dedos”) e introduzi-lo na Solução Catiónica durante três minutos, que é um intervalo de tempo razoável para ocorrer adsorção sobre o substrato;
- IV. Retirar o sensor da Solução Catiónica. Introduzir o sensor por breves instantes no Solvente da Solução anterior, retirando assim a porção de composto excedente que não ficou adsorvida no substrato;
- V. Proceder analogamente aos passos III e IV, mas utilizando a Solução Aniônica;
- VI. Repetir III, IV e V tantas vezes quantas bicamadas de filme se pretenda produzir; no primeiro e no segundo filmes, repetiu-se quatro vezes para obter as cinco bicamadas, enquanto no terceiro filme repetiu-se os passos anteriores nove vezes;
- VII. Secar o filme produzido com azoto ou deixar secar naturalmente. Neste estudo, optou-se por deixar secar naturalmente ao longo de, pelo menos, um dia.

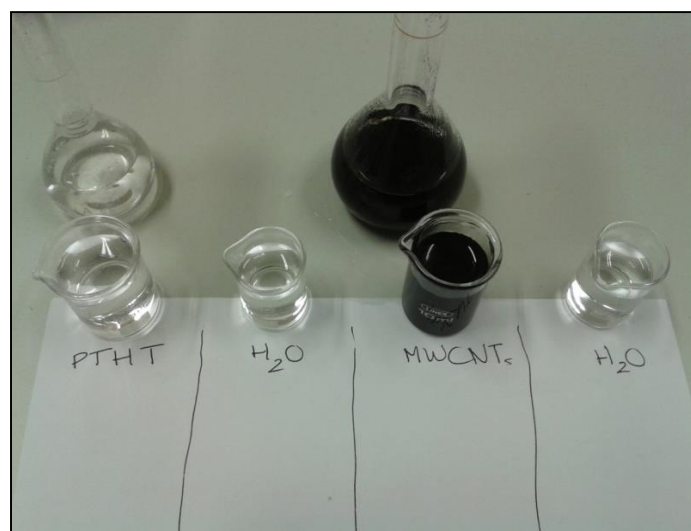
Em particular, após a fabricação do filme de (PTHT/MWCNT)₁₀, recorreu-se ao processo já mencionado de Rota do Precursor Solúvel, pelo que o filme foi aquecido a 110 °C, resultando na conversão química das camadas de PTHT em PPV. Dessa forma, o filme passa a designar-se por (PPV/MWCNT)₁₀, como era pretendido.



a)



b)



c)

Fig. 3.4 - Fotografia da bancada de trabalho antes de se preparar um filme de: a) (PAH/MWCNT)₅; b) (PAH/PAZO)₅; c) (PTHT/MWCNT)₁₀.

3.2. Caracterização dos filmes por Espectrofotometria de Ultravioleta-Visível

A caracterização dos filmes produzidos foi uma etapa importante, na medida em que deu uma maior certeza de que as heteroestruturas foram adsorvidas sobre o corpo dos sensores com sucesso, dado que estes filmes apresentam alguma transparência. Assim, o processo de Espectrofotometria de Ultravioleta-Visível permitiu obter espectros de Absorvância das amostras entre os 200 nm e os 900 nm de comprimento de onda, através do espectrofotômetro *UV-2101PC* da *Shimadzu*. Como se sabe, estes espectros de Absorvância dão informação sobre a absorção de radiação eletromagnética por parte de uma amostra, em cada comprimento de onda

pertencente à faixa de radiação Ultravioleta e Visível. Porém, salienta-se novamente que a importância desta caracterização prende-se com a necessidade de saber se os filmes ficaram efetivamente adsorvidos, pelo que só houve necessidade de comparar os espectros dos filmes no substrato de vidro com o espectro do vidro *per si*.

Como se pode observar na **Fig 3.5**, que representa a Absorvância dos diferentes sistemas sensoriais em função do comprimento de onda (c.d.o.) da radiação eletromagnética emitida pelo equipamento, verifica-se que os três substratos de vidro onde foram adsorvidos cada um dos filmes apresentam valores de Absorvância superiores ao substrato simples. Demonstra-se, assim, que aquelas substâncias aderiram com sucesso aos substratos de vidro, dado que a sua presença permitiu aumentar a sua capacidade de absorção da radiação eletromagnética na gama de c.d.o. considerada.

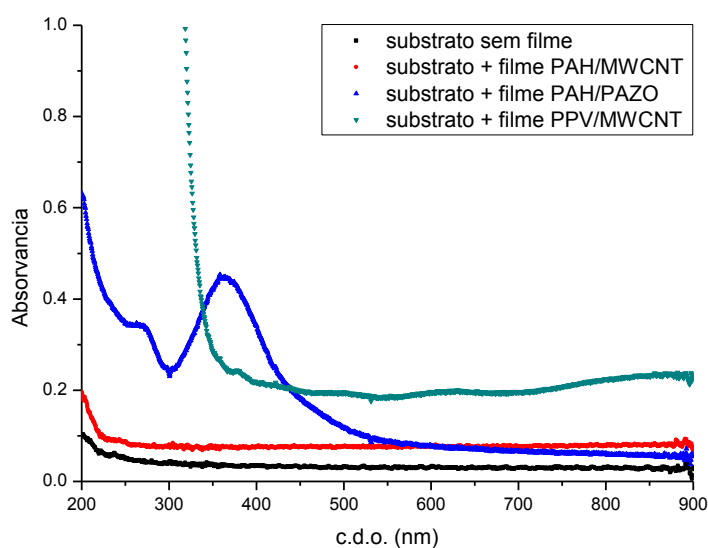


Fig. 3.5 – Espectros de Absorvância a Ultravioleta-Visível (200–900 nm) dos substratos de vidro simples e desses substratos com filmes de (PAH/MWCNT)₅, (PAH/PAZO)₅ e (PTHT/MWCNT)₁₀

3.3. Preparação das Soluções de Ibuprofeno e de Cloreto de Sódio

As soluções de análise neste estudo foram obtidas a partir de Ibuprofeno, adquirido à Alfa Aesar com 99% de pureza, dissolvido em Água ultrapura, padrão Milli-Q. O composto Ibuprofeno utilizado neste estudo pode ser visto na **Fig. 3.6**, onde em **a)** está representada a sua estrutura molecular e em **b)** temos uma fotografia do produto adquirido. Na **Tabela 3.1** podem ser consultadas algumas das propriedades físico-químicas deste composto.

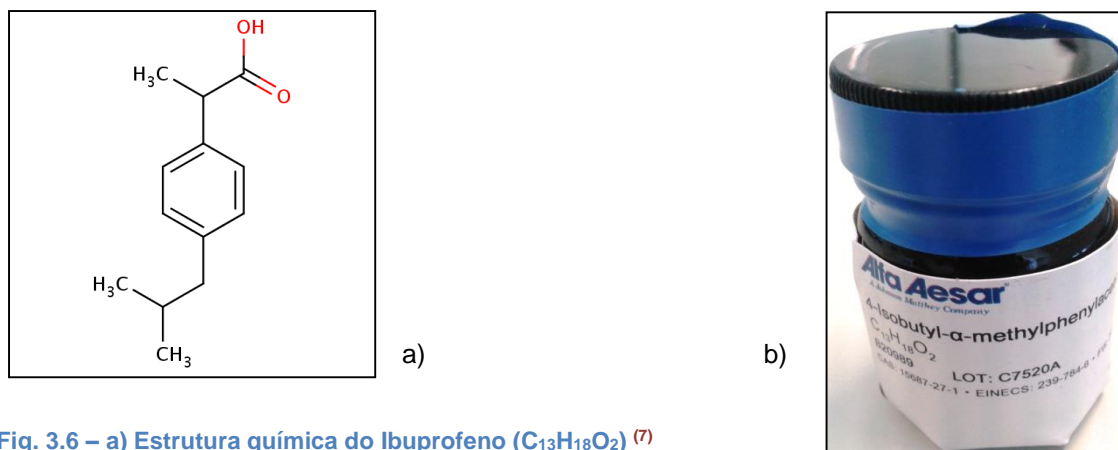


Fig. 3.6 – a) Estrutura química do Ibuprofeno ($C_{13}H_{18}O_2$) ⁽⁷⁾

b) Fotografia do Ibuprofeno adquirido à Alfa Aesar®

Tabela 3.1 – Algumas propriedades físicas e químicas do Ibuprofeno

Identificação	
CAS	15687-27-1
Fórmula química	$C_{13}H_{18}O_2$
Propriedades	
Massa molar	206.29 g/mol
Densidade	1,175 g/cm ³
Temperatura de fusão	76 °C
Temperatura de ebulição	157 °C
Solubilidade em água (a 25 °C)	0.0002 M
Log K _{OW} * (a 25 °C, pH 7)	2.48
Constante de Dissociação Ácida, pK _a	4.8
Dose letal por via oral em ratos, LD ₅₀	1255 mg/Kg

Como a água na natureza não se encontra no seu estado puro, apresentando diferentes minerais dissolvidos e diferentes salinidades, pretende-se fazer uma análise de Impedância a soluções aquosas de Cloreto de Sódio, em diferentes concentrações. Dessa forma, pretende-se obter informação sobre os efeitos deste composto na Impedância da água, a qual poderá servir de primeira abordagem com vista à futura deteção de Ibuprofeno em amostras recolhidas diretamente na Natureza, ou seja, em meios aquosos mais complexos. O Cloreto de Sódio utilizado foi adquirido à *Panreac*. Relativamente ao Ibuprofeno, preparou-se primeiramente uma solução com uma concentração de 10^{-4} M, que correspondem a uma massa de 0.0052 g de composto num volume de 250 mL. A partir dessa solução, diluiu-se a mesma em fatores de 10, até uma concentração de 10^{-12} M, com o auxílio de uma micropipeta e de um gobelé. Já as soluções de Cloreto de Sódio foram produzidas desde 10^{-3} M a 10^{-11} M de concentração. A concentração inicial de 10^{-3} M corresponde à dissolução de 0.0015 g de NaCl num volume de 25 mL de Água.

A preparação das soluções requereu o uso de luvas. As soluções de Ibuprofeno e de Cloreto de Sódio com as concentrações mais elevadas foram preparadas em balões volumétricos de 250 mL e de 25 mL, respetivamente, tendo as mesmas sido transferidas para balões de 10 mL. Para produzir as restantes concentrações daqueles compostos fizeram-se diluições. Assim, pipetou-se 1 mL de uma solução base (Ibuprofeno 10^{-4} M ou NaCl 10^{-3} M), adicionando-lhe 9 mL de Água ultrapura, em novo balão de 10 mL, repetindo-se este processo para a nova solução e assim sucessivamente, até atingir os 10^{-12} M de concentração de composto. No total, são necessários dezoito balões de 10 mL, nove para as soluções de Ibuprofeno e nove para as soluções de NaCl.

3.4. Análise de Impedância

A última etapa laboratorial deste estudo, onde efetivamente se obtiveram as medidas de Capacitância e de Resistência que são o seu foco primário, é a Espectroscopia de Impedância. O Analisador de Impedância utilizado é da HAMEG®, modelo *Programmable LCR Bridge HM8118*. Em termos práticos, o sistema de medição é constituído pelo Analisador, que fornece o sinal elétrico e interpreta o *feedback* do sistema sensor-amostra, um computador provido de um programa de automatização da aquisição de dados e o respetivo cabo de ligação USB. O Analisador possui duas pontas de prova, através das quais foi estabelecida uma tensão alternada, com forma de onda sinusoidal e 1 V de Amplitude, e estas devem ligar-se a cada um dos elétrodos do sensor interdigitado designado para a medição em causa. Para minimizar a incerteza associada às medições, realizou-se previamente uma calibração em circuito aberto e em circuito fechado antes de cada ensaio, conforme os procedimentos descritos no manual de instruções do Analisador HAMEG HM8118. Para uma calibração em circuito aberto, as pontas de prova devem estar sem contacto entre si e um pouco afastadas, preferencialmente longe de objetos metálicos. Já na calibração em circuito fechado, deve estabelecer-se contacto entre os dois polos.

As soluções, desde as menores para as maiores concentrações de soluto, começando e finalizando os ensaios com água ultrapura, foram derramadas para um gobelé de 25 mL e daí, com o auxílio de uma pipeta, foram introduzidos 5 mL de solução num gobelé com o mesmo volume, onde efetivamente ocorreram as medições. Depois de ligar o sensor ao Analisador, com o auxílio de um suporte que estabilize os cabos de ligação, o sensor é introduzido no gobelé que contém a solução, cujo espectro de Impedância pretendemos analisar. A automatização consiste num processo autónomo de obtenção de dados espectrais de Capacitância e de Resistência por “varrimento” em frequência, desde os 20 Hz aos 200 KHz, que são os limites do equipamento de análise. Deste modo, o Analisador vai calculando os valores de Capacitância e Resistência do sistema sensor-amostra a partir da sua resposta elétrica ao sinal que lhe é imposto em cada momento, enviando essa informação para o computador, que compila os dados obtidos para cada frequência. O início da medição é controlado pelo utilizador, mas o computador encarrega-se de, em períodos de tempo regulares, fazer variar a frequência do sinal que o Analisador fornece aos elétrodos, terminando a medição assim que toda a gama de frequências selecionada seja abrangida pela análise. Para cada tipo de sensor testado, ou seja, para o sensor interdigitado sem filme e para cada um dos filmes produzidos, foram analisadas as soluções de Ibuprofeno e de Cloreto de Sódio, por esta ordem. Entre ambas, o sensor foi devidamente lavado, não perdendo a sua funcionalidade. O Analisador HAMEG HM8118 é um equipamento que dispõe de um único canal, pelo que as medições tiveram de ser repetidas para cada tipo de heteroestrutura utilizada. A Temperatura foi sempre controlada, pelo que todas as medições ocorreram a 25 °C. Os resultados destes ensaios serão discutidos no **Capítulo V**.

Capítulo IV – Automatização da Análise Espectral de Impedância

Neste capítulo descreve-se o programa de computador desenvolvido com vista à automatização e controlo das medições efetuadas por Espectroscopia de Impedância. Este programa revelou-se necessário, porque o processo manual de aquisição de dados, através do Analisador de Impedância, seria bastante moroso e repetitivo. A plataforma utilizada para o desenvolvimento do *software* foi o *LabVIEW*, da *National Instruments*. Este é um *software* desenhado e muito direcionado para este tipo de finalidades, oferecendo ao programador uma linguagem gráfica intuitiva para quem está familiarizado com conceitos de eletrónica e de análise de sinais, uma vez que se baseia numa ideia de “fluxo de informação” que, em analogia para com um sinal elétrico, vai circulando e vai sendo processado num determinado circuito. Pretendia-se que o algoritmo a desenvolver permitisse o estabelecimento de comunicação entre um computador e o Analisador de Impedância *HAMEG Programmable LCR Bridge HM8118*, por ligação USB, e proporcionasse a automatização do processo de aquisição dos dados, executando comandos inerentes à máquina de aquisição.

4.1. Plataforma de Desenvolvimento do Programa

O Analisador de Impedância *HAMEG Programmable LCR Bridge HM8118* permite estabelecer comunicação entre o equipamento e um computador. Este atributo é particularmente útil se houver necessidade de uma recolha intensiva de dados espectrais de Impedância elétrica, que é o caso deste estudo. No método de medição comum, o utilizador define os parâmetros do sinal elétrico a aplicar, como a amplitude da tensão elétrica, a forma de onda e a frequência, seleciona as componentes de Impedância que deseja obter, estabelece contacto físico entre os elétrodo do Analisador e o material ou dispositivo cuja impedância se pretende medir e regista os valores que são mostrados no ecrã do Analisador, um a um, à medida que varia um qualquer parâmetro em estudo. Esse parâmetro é, tipicamente, a frequência, uma vez que, tal como o próprio nome da técnica de Espectroscopia de Impedância sugere, permite ao utilizador obter o espectro de Impedância característico do material em estudo, dentro da gama de frequências de funcionamento do Analisador. No entanto, estabelecendo comunicação entre o Analisador e um computador, estamos em condições de automatizar a aquisição das medidas de impedância, ou seja, sem que o utilizador necessite de variar manualmente a frequência e registar cada valor obtido, um programa executa essas funções, registando os dados obtidos na memória do computador. A **Fig 4.1** é uma fotografia de um Analisador idêntico ao que foi utilizado neste estudo.



Fig. 4.1 - Analisador de Impedância HAMEG Programmable LCR Bridge HM8118

A plataforma escolhida para o desenvolvimento do programa foi o *LabVIEW* da *National Instruments*. Esta linguagem permite a criação de algoritmos de automação de forma gráfica e

muito intuitiva, facilitando a comunicação entre um computador e um determinado dispositivo eletrônico de medição. Ora, por comunicação pressupõe-se uma entrada e saída de dados. Assim, torna-se essencial compreender a forma como estes dados são recebidos e enviados pelo Analisador. No manual de instruções do *HAMEG Programmable LCR Bridge HM8118* existe uma lista de comandos de controlo, isto é, o “código” funcional que o Analisador recebe e interpreta corretamente, permitindo ao utilizador a definição (uma *set operation*) remota dos parâmetros de medição, das componentes de impedância que pretende medir, entre outras funcionalidades próprias daquele Analisador. Existe ainda outra lista de comandos que permitem ao utilizador solicitar (uma *query operation*) o envio dos dados obtidos nas medições ou verificar os parâmetros de medida introduzidos. Estes comandos são baseados em SCPI (do inglês *Standard Commands for Programmable Instruments*), um padrão de sintaxe que consiste em *strings*, em código ASCII (do inglês *American Standard Code for Information Interchange*), que contém as palavras-chave às quais o aparelho de medição responde.

Compreendida a “linguagem” do Analisador, importa definir a interface de comunicação. As interfaces permitidas pelo equipamento são de natureza física: a comunicação RS232 e a comunicação USB. Associados a cada uma destas interfaces, existem os respetivos protocolos de comunicação, ou seja, a forma como a informação é transmitida em termos de sintaxe, semântica e sincronismo. Mais concretamente, um protocolo de comunicação é uma convenção que define, por exemplo, o início e a interrupção da transferência de dados entre os dispositivos conectados, a formatação da mensagem, entre outras propriedades que poderão ou não ser configuráveis. Para além da diferença de protocolo entre as interfaces de comunicação RS232 e USB, também os cabos de ligação e os respetivos conectores são diferentes, conferindo uma vantagem clara à performance do USB. Contudo, embora esta diferença seja preponderante na celeridade dos processos de transferência de dados, a escolha de USB como interface de comunicação deve-se apenas a uma questão de logística inerente ao computador utilizado. Para que o computador reconheça o Analisador, via USB, é necessário instalar o *driver* HO820. Há ainda necessidade de, nas propriedades do *driver*, simular um porto COM (porto de comunicação), que é uma designação comum para um porto série. Este porto COM virtual emula todas as funcionalidades dos portos série de *hardware*, incluindo a Baud Rate, a Paridade, os Data Bits, o Stop Bit, entre outras propriedades. Esta emulação permite a execução de funções e o desenvolvimento de algoritmos em LabVIEW, recorrendo à biblioteca VISA (do inglês *Virtual Instrument Software Architecture*), um *standard* que faz de canal de comunicação entre o Analisador e a plataforma de desenvolvimento do programa. Outra particularidade do *standard* VISA é que permite o uso de comandos SCPI, pelo que estão reunidas as condições para o desenvolvimento do programa.

A programação em LabVIEW segue uma lógica de “fluxo” de informação, ou seja, a informação circula através de canais ou fios que se conectam a determinados operadores, que podem ser observados graficamente no ecrã do computador. Inicialmente, os dados provêm de uma determinada entidade, que pode ser um dispositivo em comunicação com o computador, ou parâmetros de *input* inseridos pelo programador, que podem ou não ser ajustáveis pelo utilizador à medida das suas necessidades. A informação que circula é constituída por dados de diferentes naturezas, como numérica natural, numérica decimal, do tipo *string*, vetores de elementos de uma mesma natureza, entre outros. A cada tipo de dados corresponde um fio de uma determinada cor. Os fios estão encarregues de “conduzir” os dados até aos elementos gráficos, que operam sobre esses dados. Alguns elementos gráficos executam funções com os dados que recebem, mas também devolvem um *output*, que não tem necessariamente de ser da mesma natureza dos dados recebidos. O processamento de dados ocorre, portanto, pela conexão dos fios transmissores de dados aos operadores desejados, da forma mais conveniente, formando um circuito. A “combinação” de dados, de uma ou de várias naturezas, com os elementos que os processam constituem o algoritmo nesta linguagem de programação gráfica. Adicionalmente, podem ser adicionados ciclos de execução ou estruturas *case*. Os ciclos, comumente

designados por *while* e *for*, são estruturas que delimitam determinados fios e elementos gráficos, cercando-os, pelo que o processamento que lhes corresponde vai ocorrer somente enquanto se verificar uma determinada condição. Esta condição pode ser um intervalo de tempo, o número de iterações (número de vezes que o ciclo se repete), entre outras opções. Quanto às estruturas *case*, são representados de forma análoga, mas a execução interna pode apresentar variações, estando dependente de uma “ordem” externa à estrutura. Essa ordem representa um “caso”, pelo que a programação correspondente, delimitada pela estrutura, vai ser executada.

De seguida, a forma como o algoritmo foi programado no Diagrama de Blocos da plataforma LabVIEW será explicada passo-a-passo, fazendo-se o paralelismo possível com o Painel Frontal da mesma plataforma, onde foi desenvolvida a interface gráfica do programa.

4.2. Desenvolvimento e Funcionamento do Programa

Inicialmente, o programa possibilita a configuração remota dos parâmetros da análise de Impedância, fixando um valor de Tensão e definindo a medição no modo C+R, isto é, a aquisição das componentes Capacitância e Resistência, ao mesmo tempo que define um valor de frequência e, assim, inicia a aquisição. Para além destas Grandezas, o Analisador permite ainda medir: a Indutância, o Fator de Qualidade, o Fator de Dissipação, a Admitância, a Condutância, a Susceptância, a Reactância, o Ângulo de Fase e ainda a Indutância Mútua de Transformadores. À medida que os valores obtidos para uma determinada frequência satisfaçam as necessidades do utilizador, esta vai sendo incrementada, ou seja, o computador dá ordem ao Analisador para este atualizar o valor da frequência, o que permite um “varrimento” até um limite desejado. A gama de frequências que o Analisador cobre situa-se no intervalo de 20 Hz a 200 KHz, e a frequência inicial deverá ser estabelecida com um valor menor ou igual à frequência final, porque o “varrimento” ocorre por ordem crescente. A lista de frequências pode ser consultada na **Fig. 4.2**. O programa permite obter um espectro de Impedância sem que o utilizador interfira com o equipamento ou com a amostra, a partir do momento em que inicia a aquisição. Esta particularidade é muito útil em termos de eficiência e celeridade, permitindo, ainda, um maior controlo do sistema Analisador-amostra, na medida em que as medições estão menos condicionadas por fatores externos.

20 Hz	120 Hz	800 Hz	6.0 kHz	40 kHz
24 Hz	150 Hz	900 Hz	7.2 kHz	45 kHz
25 Hz	180 Hz	1.0 kHz	7.5 kHz	50 kHz
30 Hz	200 Hz	1.2 kHz	8.0 kHz	60 kHz
36 Hz	240 Hz	1.5 kHz	9.0 kHz	72 kHz
40 Hz	250 Hz	1.8 kHz	10 kHz	75 kHz
45 Hz	300 Hz	2.0 kHz	12 kHz	80 kHz
50 Hz	360 Hz	2.4 kHz	15 kHz	90 kHz
60 Hz	400 Hz	2.5 kHz	18 kHz	100 kHz
72 Hz	450 Hz	3.0 kHz	20 kHz	120 kHz
75 Hz	500 Hz	3.6 kHz	24 kHz	150 kHz
80 Hz	600 Hz	4.0 kHz	25 kHz	180 kHz
90 Hz	720 Hz	4.5 kHz	30 kHz	200 kHz
100 Hz	750 Hz	5.0 kHz	36 kHz	

Fig. 4.2 – Lista de frequências de trabalho do Analisador HAMEG

O programa vai estar estruturado em dois ciclos *while*, um dentro do outro. A cada repetição do ciclo interno, o computador envia os comandos necessários para manter/variá as configurações de operação do Analisador e para requerer os valores de Capacitância e Resistência, nesse instante. Contudo, o computador só lê e processa os dados recebidos a cada 1500 ms, que é o valor por defeito do tempo de *delay before read*. Esta propriedade impede-nos

de receber informação redundante, dado que o Analisador adquire medidas a um ritmo muito menor do que a velocidade de processamento e/ou de transmissão de dados do computador. Assim, ao fim de aproximadamente cada 1500 ms, o computador recebe uma medida e engloba-a num vetor, em memória interna. Ao fim do tempo definido para a aquisição em frequência fixa, as medidas do vetor são registadas num documento em formato “.txt”. Este tempo de aquisição, denominado de *Acquisition Time*, em segundos, deve ser sempre maior que o *delay before read*, já que obtemos, aproximadamente, tantas medidas quantas vezes o *delay before read* se possa repetir durante o *Acquisition Time*. Findo este período de aquisição, o ciclo interno incrementou para o próximo valor de frequência de aquisição, o ciclo externo verifica se esse valor é menor ou igual que o limite máximo de frequência e, em caso afirmativo, reinicia a execução do ciclo interno. O ciclo externo repete-se tantas vezes quantas frequências houver para “varrer” ao longo da gama escolhida. Se se desejar cobrir toda a gama do Analisador, o ciclo repetir-se-á 69 vezes, que é a quantidade de frequências em que o Analisador opera no intervalo 20Hz a 200KHz. Pelo contrário, se for desejável obter uma determinada quantidade de medidas para uma frequência fixa, basta que para isso se defina a frequência inicial igual à frequência final, no *Frequency Range* localizado no Painel Frontal, e o *Acquisition Time*.

A primeira tarefa no desenvolvimento do programa consiste na configuração do porto série, de acordo com as exigências técnicas do Analisador *HAMEG Programmable LCR Bridge HM8118*. Como tal, a *Baud Rate*, que representa a taxa de transmissão de *bits*, deve ser de 9600 *bits/s*. É desejável que cada oito *bits* (*byte*) codifiquem um carácter, pelo que o parâmetro *data bits* deve ser igual a oito. Por sua vez, a paridade deve ser igual a 0, o que estabelece que esta ação não será ativada. A paridade não é mais do que um método de deteção de erros. Quando esta opção está ativada, um *bit* extra é enviado para o porto série com o valor 1 ou 0, por cada *byte* transmitido, de forma que a quantidade de 1 presentes nesse *byte* seja sempre par ou sempre ímpar. Quando um *byte* e o respetivo *bit* de paridade não respeitam esta “regra”, o *byte* não é transmitido. No final de um *byte*, que codifica um determinado carácter que se pretende transmitir, vem um *stop bit*, que permite ao dispositivo recetor detetar o fim da informação binária que codifica aquele carácter. O *flow control* foi desativado, pois neste caso não há necessidade de pausar e retomar a transmissão de dados para que o dispositivo recetor tenha de executar uma determinada tarefa. Tendo em conta a taxa a que o Analisador obtém novas medidas, cerca de doze por segundo, o *delay before read*, isto é, o atraso imposto ao computador antes de este ler a informação que tinha solicitado ao Analisador, deve assegurar que o valor da medição recebida não é o mesmo da anterior solicitação, para evitar a inconveniência da informação redundante. Desse modo, 1500 ms é um valor razoável e seguro para configurar este parâmetro. O *VISA Resource Name* é um parâmetro que mostra ao utilizador os portos série com os quais é possível comunicar, devendo o utilizador selecionar a porta COM virtual que emulou anteriormente. A estes parâmetros de configuração do porto devem corresponder botões controladores, aos quais o utilizador terá acesso através da interface gráfica do programa, no Painel Frontal do LabVIEW. No Diagrama de Blocos, onde o algoritmo é desenhado, estas variáveis devem conectar-se à entrada do operador *VISA Configure Serial Port*, à exceção da *delay before read*. Estes dois painéis de desenvolvimento do programa fazem uma correspondência direta entre os Controladores e as Variáveis, no Painel Frontal e no Diagrama de Blocos, respetivamente. Assim, se for criado, por exemplo, um controlador do tipo numérico inteiro no Painel Frontal, a variável correspondente aparecerá no Diagrama de Blocos, podendo conectar-se a um operador com afinidade para dados numéricos inteiros. O mesmo acontece com os restantes tipos de dados, como os numéricos booleanos (que aparecem tipicamente sob a forma de interruptores, no Painel Frontal), os numéricos decimais longos, as *strings* e os demais. As Constantes, ou seja, aqueles dados que mantêm o seu valor ao longo da execução do programa, não têm correspondência direta aos Controladores, podendo somente ser mostrados os seus valores em janelas, no Painel Frontal. Havendo essa necessidade, pode ligar-se uma Constante à entrada de um Indicador, no Diagrama de Blocos, que o seu valor será mostrado na janela respetiva, no Painel Frontal. Contudo, o valor das constantes é geralmente

ignorado pelo utilizador, servindo apenas de ferramenta para o programador desenvolver o seu algoritmo. Por conseguinte, as constantes *Enable Termination Char* e *timeout* devem ser *input* do operador *VISA Configure Serial Port*. A primeira, do tipo booleano, deve ter o valor Falso, uma vez que não se pretende ter um determinado carácter a definir o término da operação de envio de dados. A constante *timeout* está definida no valor 10000 ms, que é o valor por defeito na configuração do porto série. As variáveis, as constantes e as suas ligações ao bloco *VISA Configure Serial Port*, tal como foram anteriormente especificadas, podem ser observadas na **Fig. 4.3-a**, que corresponde a um módulo retirado do Diagrama de Blocos do programa. Os controladores respetivos, no Painel Frontal, são idênticos aos que são apresentados na **Fig. 4.3-b**, onde o utilizador do programa poderá alterar os valores que se encontram definidos por defeito, que, na verdade, são aqueles que o Analisador requiere.

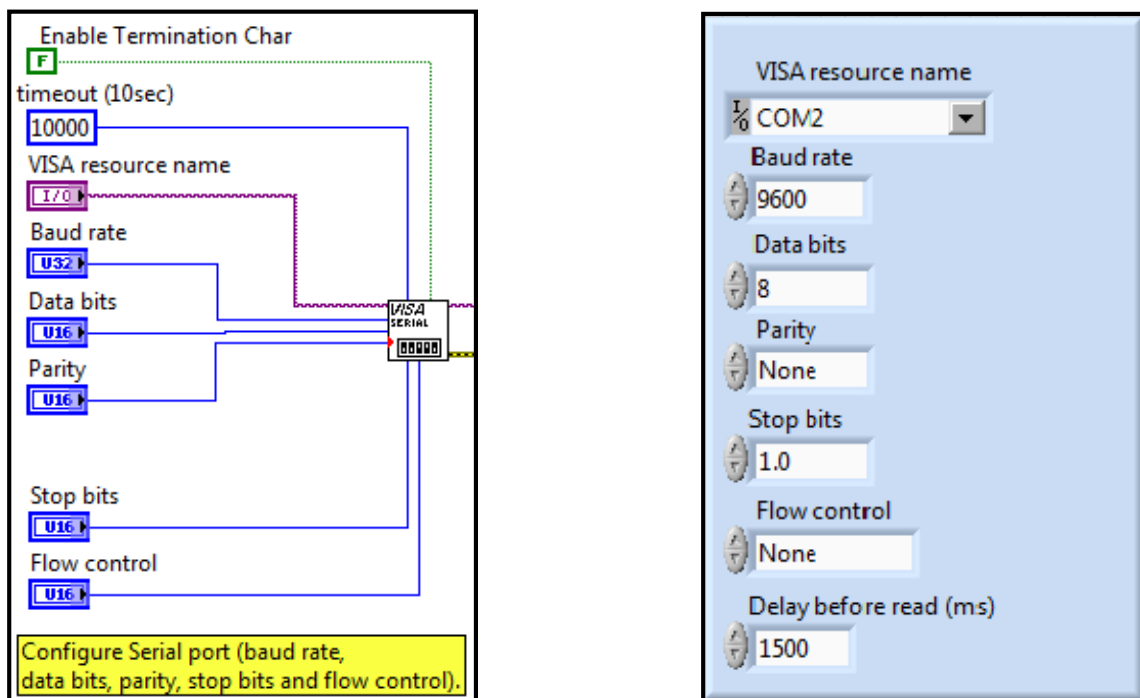


Fig. 4.3 - a) Ligações que permitem a configuração do porto série, no Diagrama de Blocos;
b) Painel de configuração do porto série na interface gráfica do programa

À saída do *VISA Configure Serial Port*, vamos ter um “fio” com uma cópia do *VISA resource name* e outro que dá informação sobre a ocorrência de erros, o *error out*. Ambos serão *input* do operador *VISA Write Function*, sendo que o *error out* passa a designar-se *error in*.

Como referido anteriormente, o Analisador é sensível a determinados comandos, que não são mais do que *strings* ASCII num determinado padrão de sintaxe. Se queremos configurar um determinado parâmetro de medida ou modo de operação, devemos enviar uma *string* com os caracteres correspondentes, seguidos do valor que queremos definir para esse parâmetro, separados por um espaçamento (*space*). Se, por outro lado, desejamos requerer uma determinada medida ou verificar algum parâmetro, devemos enviar um *string* com os caracteres respetivos, seguidos de um ponto de interrogação (“?”). Para acionar cada um destes comandos, deve transmitir-se um *carriage return*. Este pertence a um grupo especial de caracteres do código ASCII, denominados de caracteres de controlo, que não representa, por si só, um símbolo de escrita. Concretamente, o *carriage return* dá indicação ao dispositivo para retornar à primeira posição da linha em que o comando foi escrito. É conveniente enumerar o conjunto de comandos

que são efetivamente enviados pelo computador ao Analisador, em cada iteração, bem como o resultado prático de cada uma destas ações:

- VOLT <valor>: Este comando permite ao utilizador ajustar a tensão elétrica de operação do analisador. O campo <valor> deve conter um valor numérico de tensão entre 0.05 V e 1.5 V, em intervalos de 0.05.
- FREQ <valor>: Dá indicação ao analisador para atualizar a sua frequência de operação. Inicialmente, o campo <valor> toma o valor definido pelo utilizador, no Painel Frontal, sendo posteriormente incrementado no fim de cada ciclo interno, até um limite máximo também definido pelo utilizador. Os valores possíveis para preencher o campo <valor> podem ser consultadas na **Fig. 4.2**.
- PMOD <valor>: É utilizado para definir o Modo de Operação do Analisador, ou seja, que par de componentes de impedância elétrica pretendemos medir. Contudo, por conveniência deste estudo, o <valor> por defeito é 3 e corresponde ao modo C+R, que permite obter as medidas de Capacitância e Resistência elétricas.
- XALL?: Ao contrário dos comandos descritos acima, este corresponde a uma *query operation*, pois permite solicitar ao analisador o envio do último par de valores de impedância medidos. A resposta vem sob a forma de *string*, com os valores de Capacitância e de Resistência em notação exponencial, por esta ordem, separados por uma vírgula.

Os comandos de *set operation* são enviados ao analisador, na plataforma LabVIEW, pela concatenação de uma constante do tipo *string*, que contém o código comum (por exemplo “FREQ+space”), com uma string contendo o valor inserido pelo utilizador no controlador correspondente. Ao resultado, concatena-se a constante *carriage return*. Para enviar vários comandos numa única iteração, concatenam-se as *strings* resultantes de cada uma destas operações. De seguida, à string composta, que contém os comandos com as configurações de Tensão, Frequência e Modo de operação, deve ser concatenada a *string* com o comando para solicitar as medidas e, novamente, uma constante *carriage return*. A *string* resultante vai servir de *input* ao operador *VISA Write Function*, responsável por transmitir os comandos ao analisador, conforme se pode verificar na **Fig. 4.4**.

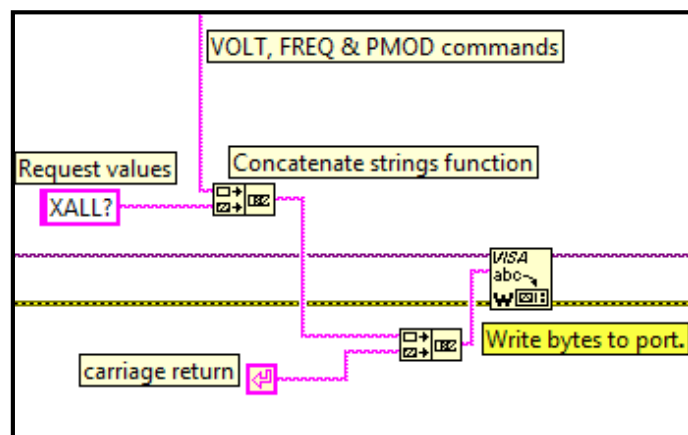


Fig. 4.4 – A *string* contendo os comandos de configuração da Tensão, Frequência e Modo de Operação é concatenada à *string* cujo comando é utilizado para solicitar medidas. Esta é acionada pela concatenação com a constante *carriage return*. A *string* resultante, por sua vez, vai conectar-se à entrada do operador *VISA Write Function*, encarregue de enviar estes comandos ao Analisador. Este operador pode ser identificado, na figura, pela “caixa” *VISA W*.

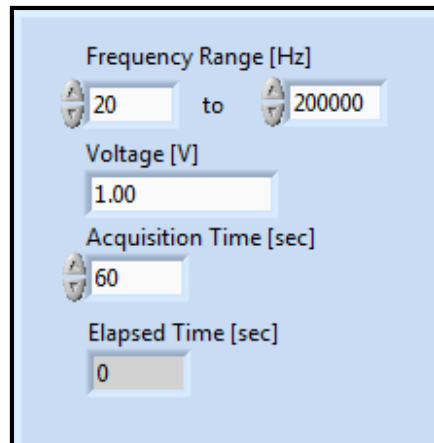


Fig. 4.5 – Painel de Configuração dos limites da frequência de aquisição (“*Frequency Range [Hz]*”), da tensão elétrica de trabalho (“*Voltage [V]*”) e do tempo de aquisição em cada frequência (“*Acquisition Time [sec]*”), cuja evolução se pode acompanhar no indicador subjacente (“*Elapsed Time [sec]*”)

Depois de processado o envio, o operador *VISA Write Function* vai devolver a cópia do *VISA resource name* e o *error out*. Estas vão sofrer um atraso de tempo na sua transmissão, o *delay before read*, pelas razões enunciadas anteriormente. O código que permite realizar este tempo de espera antes de se proceder à leitura dos *bytes* à entrada do porto série é idêntico ao da **Fig. 4.6**. Após o atraso, os “fios” *VISA resource name* e *error out* vão transmitir as informações que neles fluem a um operador do tipo *Property Node*, que permite editar ou captar as propriedades de um determinado objeto que, nesta situação em particular, é o porto série com o qual estamos a comunicar. Este operador é importante, pois permite obter o número concreto de *bytes* no porto série que estão a “aguardar” leitura, que deverá ocorrer de seguida. O *VISA resource name* e o *error out* serão novamente devolvidos por este operador.

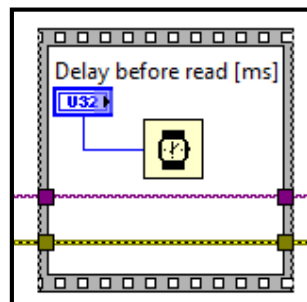


Fig. 4.6 - Código responsável pelo atraso de tempo, equivalente ao *delay before read*, sofrido pelos “fios” *VISA resource name* (a roxo) e pelo *error out* (a verde) na sua transmissão. O “relógio” representa uma *Wait (ms) Funcion*, que promove o tempo de espera antes da transmissão da informação ocorrer

O próximo passo é a leitura e interpretação dos *bytes* no porto série que, uma vez mais, é executada por um operador *VISA* dedicado a esta função, o *VISA Read Function*. O *VISA resource name* e o *error out*, assim como o *byte count* (contagem de *bytes* no porto série, sendo que só esse número de *bytes* será tido em conta na leitura), que haviam sido devolvidos pelo *Property Node*, conectam-se à entrada daquele operador, o que permite iniciarmos a leitura do porto série. O resultado da leitura do porto série, vulgo a informação que recebemos do Analisador de Impedância, é recebido sob a forma de *string*, que poderá ser visualizada de imediato, através do indicador denominado de *Read String*. No final da escrita e da leitura no

porto série, ou em caso de ocorrer algum erro na execução do programa, o operador *VISA Close Function* terminará a sessão de comunicação entre o computador e o analisador. O módulo do algoritmo, no Diagrama de Blocos, que é responsável pela obtenção do número de *bytes*, pela sua leitura e término da sessão é idêntico ao da **Fig. 4.7**.

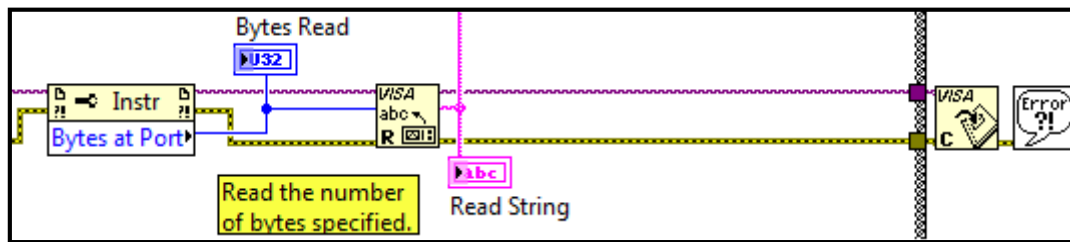


Fig. 4.7 – O operador *Property Node* recebe como referência o *VISA resource name*, o qual identifica a comunicação com o analisador através do porto série, fornecendo, assim, o número de *bytes* que deverão ser lidos e interpretados no operador *VISA Read Function*. O resultado deste processo, isto é, a medida requerida ao analisador, vem sob a forma de *string*, que poderá ser visualizada de imediato no indicador *Read String*. Concluídos os processos de escrita e leitura no porto série, ou em caso ocorrência de erro, o *VISA Close Function*, operador que recebe o *VISA resource name* e o *error out* provenientes do operador anterior, terminará a sessão.

“Correndo” o programa, percebeu-se que esta *string* contém as medidas de Capacitância e Resistência, ordenadas por esta ordem, separadas por uma vírgula. Surgem, pois claro, em notação científica. Contudo, pensando um pouco mais à frente neste estudo, na fase de análise de dados, é adequado processar a *string* com as medidas de Impedância, de modo a facilitar a sua introdução nos programas informáticos onde vão ser objeto de uma primeira análise. Assim, optou-se por dividir a *string* em duas, tendo como referência a vírgula, eliminando-a. As medidas são, portanto, separadas em *strings* diferentes, tarefa para a qual estão encarregues a *Split String Function* e a *Replace Substring Function*, sob a forma dos respetivos operadores gráficos, no Diagrama de Blocos. As *strings* contendo as medidas de cada grandeza são, paralelamente, introduzidas em vetores de *strings* específicos, o que permitirá a visualização, por parte do utilizador, de todas as medidas, separadas por grandezas, à medida que vão sendo recebidas pelo computador. As medidas são visíveis no Painel Frontal durante o *Acquisition Time*, ou seja, ao longo da aquisição num valor fixo de frequência, sendo eliminadas posteriormente, mas não sem antes serem guardadas num documento “.txt”. Assim, em resumo, à medida que se processe a leitura da informação recebida pelo analisador, esta é devolvida sob a forma de *string* com as medidas de ambas as grandezas, que são separadas e introduzidas em vetores próprios. Estes vetores permitem que, à medida que vão sendo recebidas pelo computador na execução do programa, as medições possam ser visualizadas de imediato. Por fim, os dados destes vetores são gravados na memória do computador e os elementos dos vetores são eliminados, pelo que se conclui um ciclo interno do algoritmo desenvolvido, tendo a frequência sido incrementada para o próximo valor. Importa referir que a execução do programa pode ser interrompida em caso de necessidade, carregando no botão *STOP* do Painel Frontal. Outra particularidade, é que os dados presentes nos vetores de Capacitância e de Resistência podem ser salvos ou apagados em qualquer instante, através dos botões *SAVE* e *CLEAR*, respetivamente, sem que seja necessário preencher esses vetores com os dados de impedância recolhidos ao longo de todo o *Acquisition Time*. Aos botões *SAVE* e *CLEAR* vão corresponder as respetivas rotinas no Diagrama de Blocos. No primeiro, fornecendo uma diretoria válida do computador, os elementos dos vetores de medidas são guardados num ficheiro “.txt” através do operador *Write to Text File Function*. Já o *CLEAR*, ao ser executado, vai eliminar os elementos dos vetores através da função *Delete From Array*.

4.3. Instruções para o Utilizador

Implementadas as funcionalidades, é importante desenvolver uma boa interface gráfica para o utilizador, dado que o propósito do desenvolvimento deste programa de automatização prende-se com a intensidade na recolha de dados que se requiere neste estudo. Por esse motivo, mas também porque o programa desenvolvido para este estudo é altamente específico, tanto ao nível dos requisitos do equipamento, como nos comandos e nas grandezas medidas, optou-se por um *design* simplista e extremamente intuitivo, com cores suaves e botões sugestivos, tal como pode ser observado na **Fig. 4.8**. A interface gráfica encontra-se dividida em dois blocos fundamentais e um acessório, que são, respetivamente:

- I) O Painel de configuração do porto série;
- II) O Painel de configuração dos parâmetros de aquisição, visualização, gravação ou remoção dos dados e interrupção da execução do Programa;
- III) Ligar ou Desligar escrita e/ou leitura do porto série, visualização da string recebida e do número de bytes que a codificou.

No bloco I, podem ser configurados os parâmetros de comunicação Computador-Analisador via RS232. Contudo é aconselhado que se mantenham os valores por defeito, porque são os recomendados pelo fabricante do Analisador. No bloco II, em *Frequency Range [Hz]*, pode definir-se os limites de frequência em que se pretende que o Analisador opere. O limite inferior deve ser inferior ou igual ao limite superior, dado que o “varrimento” em frequência ocorre no sentido dos valores crescentes. A Tensão, *Voltage [V]*, está fixada em 1.00 V. O *Acquisition Time [sec]* pode ser configurado pelo utilizador, mas deverá ser superior 1.5 s, que é o intervalo de tempo em que Analisador transmite uma nova medição ao Computador. O mostrador *Elapsed Time [sec]* mostra o tempo decorrido em cada medição numa dada frequência, reiniciando-se sempre que a frequência é incrementada, ou seja, quando decorre o tempo definido em *Acquisition Time [sec]*. Os botões *STOP*, *SAVE* e *CLEAR* permitem interromper a aquisição, gravar os valores adquiridos e excluir esses valores, respetivamente. Para iniciar a aquisição, utiliza-se o botão *RUN* do LabVIEW. O bloco 3, no ponto de vista do utilizador, carece de utilidade. Contudo, pode facilitar a perceção de algum erro de medição ou de comunicação.

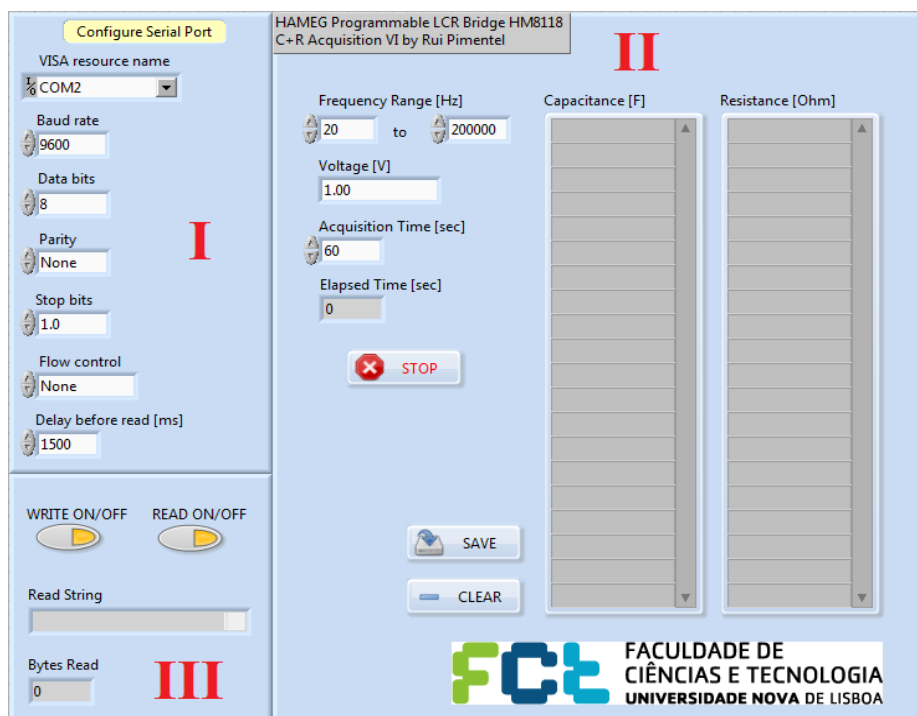


Fig. 4.8- Aspeto visual do Programa, elaborado no Painei Frontal do LabVIEW:

- I) Painel de configuração do porto série;
- II) Painel de configuração dos parâmetros de aquisição, visualização, gravação ou remoção dos dados e interrupção da execução do Programa;
- III) Ligar ou Desligar escrita e/ou envio no porto série, visualização da *string* recebida e do número de bytes que a codificou.

Os ficheiros “.txt” que contêm as medidas de Capacitância e de Resistência que obtivemos por comunicação com o Analisador são guardados no Ambiente de Trabalho (*Desktop* do *Windows*) do computador onde o programa foi executado, dentro da pasta “HAMEG HM8118 C-R data”. Executando o programa, à medida que o Analisador “varra” as frequências dentro do intervalo selecionado, as medidas de cada frequência vão sendo guardadas em documentos separados, intitulados de “HAMEG HM8118 C-R data freq <X> .txt”, onde <X> representa uma determinada frequência analisada. Para além das medidas, nos documentos são registados o nome do equipamento de análise de Impedância, o modo de aquisição e o autor do programa (na primeira linha), a data e a hora (segunda e terceira linhas, respetivamente), a Tensão elétrica do sinal e a sua frequência (quarta e quinta linhas), tal como se pode observar na **Fig. 4.9**. Este formato de documento, como se pode constatar, permite a importação das medidas, de forma eficiente, para as plataformas de análise de dados.

```
HAMEG Programmable LCR Bridge HM8118 C-R Acquisition by Rui Pimentel
DD-MM-AAAA
HH:MM
Voltage: 1.00 V
Frequency: <X> Hz

Capacitance [F]
X1
X2
X3
...

Resistance [Ohm]
Y1
Y2
Y3
...
```

Fig. 4.9 – Forma de apresentação dos documentos “.txt” guardados, que contêm as medidas obtidas pelo Analisador. Na primeira linha surge o nome do equipamento de análise de Impedância, o modo de aquisição e o nome do autor do programa. Na segunda e na terceira linhas surgem a data e a hora, respetivamente. Nas duas seguintes surgem, por esta ordem, a tensão elétrica (definida, por defeito, em 1 V) e a frequência do sinal, onde <X> representa a frequência à qual as medidas dizem respeito. Nas linhas seguintes aparecem as medidas de Capacitância (simbolicamente representadas por “X1, X2, X3, ...”) e de Resistência (“Y1, Y2, Y3, ...”), ambas em notação científica, com as medidas de cada Grandeza intervaladas por uma linha em branco.

Capítulo V – Resultados

Como ponto de partida neste estudo, efetuou-se a análise espectral de impedância em água ultrapura e em diferentes concentrações de Ibuprofeno e de Cloreto de Sódio, em condições simples, dado que os interdigitados ainda não estavam revestidos por quaisquer heteroestruturas sensoriais. Este primeiro passo é necessário, porque apesar da menor sensibilidade deste tipo de sistemas sensoriais face a alguns sensores revestidos por filmes finos, dá uma primeira garantia de que os elétrodos são funcionais e permite verificar se estes, por si só, já dão indícios da presença das moléculas-alvo, Ibuprofeno e Cloreto de Sódio. A temperatura onde foram efetuados os ensaios foi controlada, de forma a manter o sistema elétrodo-amostra a 25° C, dado que a temperatura tem efeitos na impedância dos materiais. Posteriormente, foram produzidas heteroestruturas sensoriais para tentar melhorar a sensibilidade do sensor. Para além da análise dos espectros de Capacitância e de Resistência que foram obtidos nos ensaios, também serão analisados os espectros do Fator de Dissipação, $\text{tg } \delta$, que têm em conta as contribuições de ambas as grandezas medidas. O Fator de Dissipação quantifica as perdas de Energia Eletromagnética em sistemas dielétricos, tendo sido obtida através da equação expressa em (2.3.10).

A grandeza inversa, também ela muito utilizada no estudo de sistemas dielétricos, é o Fator de Qualidade, Q , que, contudo, não foi analisado. As medidas de $\text{tg } \delta$ e de Q poderiam ter sido obtidas através do Analisador, no entanto não seria possível obter os valores de Resistência e de Capacitância, dado que o cálculo das primeiras é feito internamente pelo Analisador.

5.1. Análise de Impedância sem Heteroestruturas Sensoriais acopladas aos Interdigitados

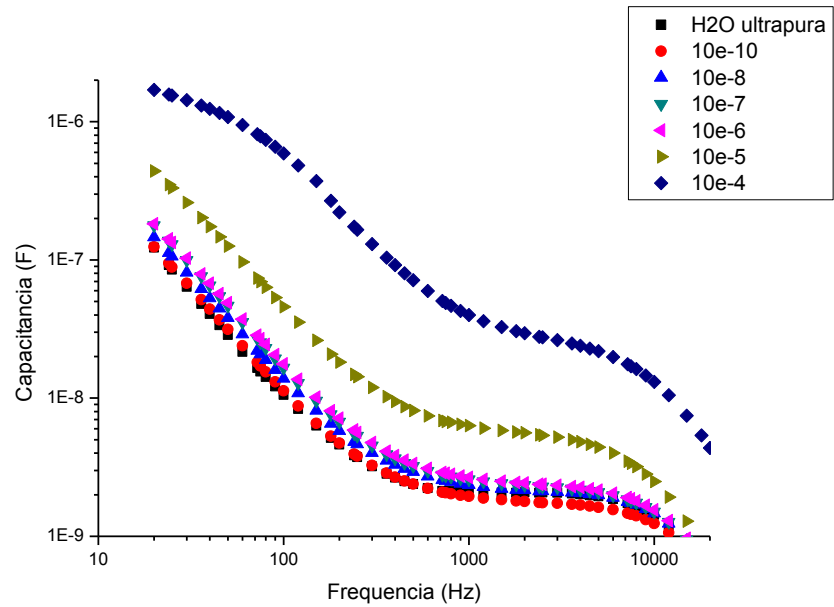
Num primeiro momento, mediu-se a Capacitância e a Resistência e calculou-se o Fator de Dissipação da água ultrapura e de soluções concentradas entre 10^{-10} M a 10^{-4} M de Ibuprofeno, que é um composto pouco solúvel em água. Num momento posterior, analisou-se novamente a água ultrapura e as soluções aquosas de Cloreto de Sódio (NaCl) em concentrações de 10^{-10} M a 10^{-4} M, que é um composto com boa solubilidade em água. Foi utilizado apenas um elétrodo Interdigitado, que após cada ensaio é lavado para ser reutilizado, mantendo a sua integridade. Com esta sequência de ensaios, pretende-se verificar se as Impedâncias fornecidas pelo Analisador para as diferentes concentrações de Ibuprofeno e Cloreto de Sódio indiciam a sua presença.

5.1.1. Análise de Água Ultrapura e de soluções aquosas de Ibuprofeno

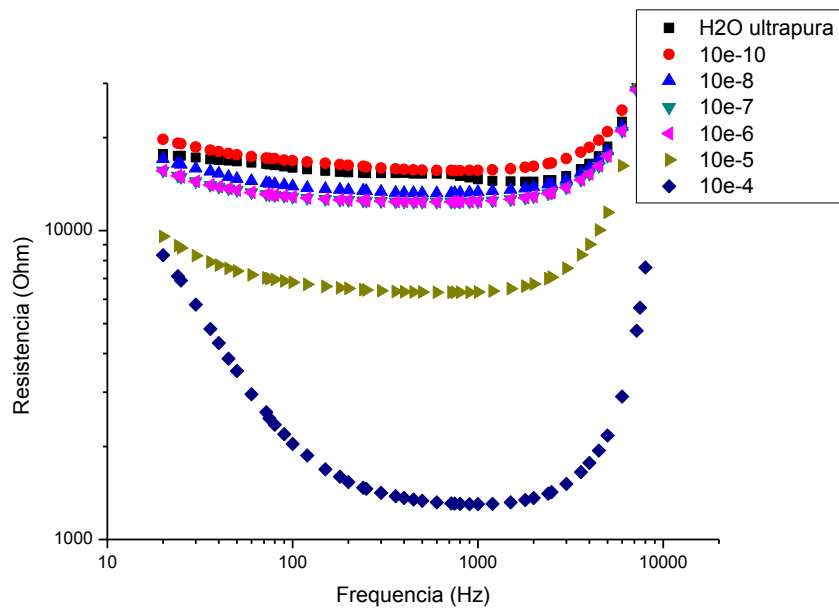
Começou por se analisar a Impedância em água ultrapura, que corresponde à concentração de 0 M, para que se possa fazer a análise das soluções de Ibuprofeno por ordem crescente de concentração, não correndo assim o risco de a medição anterior perturbar a seguinte, devido a uma maior adsorção da molécula-alvo no corpo do sensor. Este ensaio em Ibuprofeno consiste na análise espectral de Impedância das soluções deste composto, em concentrações de 10^{-10} M a 10^{-4} M, década a década. Os espectros de Capacitância e de Resistência, obtidos a uma temperatura de 25° C, podem ser observados na **Fig. 5.1-a e -b**, respetivamente, de onde se observa que a presença do composto Ibuprofeno em água melhora as suas propriedades capacitivas, ao mesmo tempo que reduz o seu carácter resistivo, propriedade que se verifica consistentemente entre os 20 Hz e aproximadamente os 10000 Hz. Os espectros do Fator de Dissipação também foram analisados, verificando-se um aumento do

Resultados

Fator de Dissipação com o aumento da Concentração de Ibuprofeno, mais evidente entre os 20 Hz e os 1000 Hz, como se pode observar na **Fig. 5.1-c**.

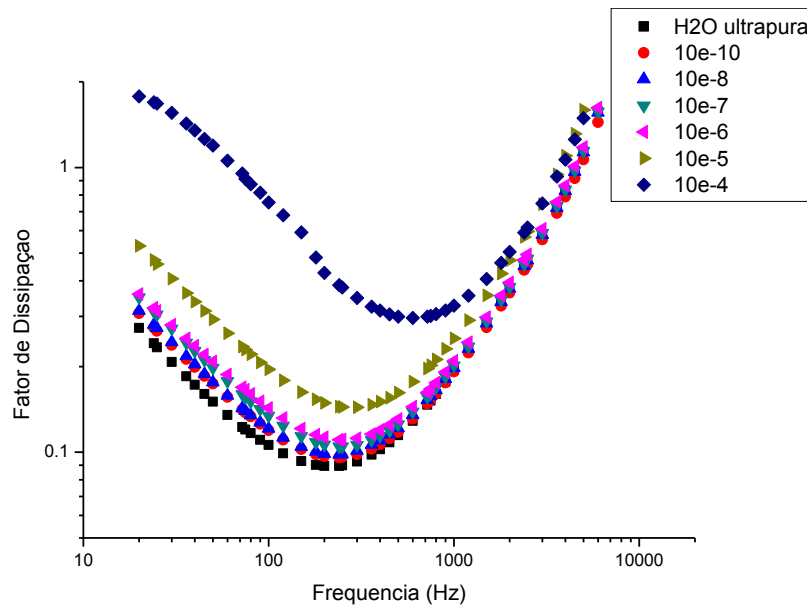


a)



b)

Resultados



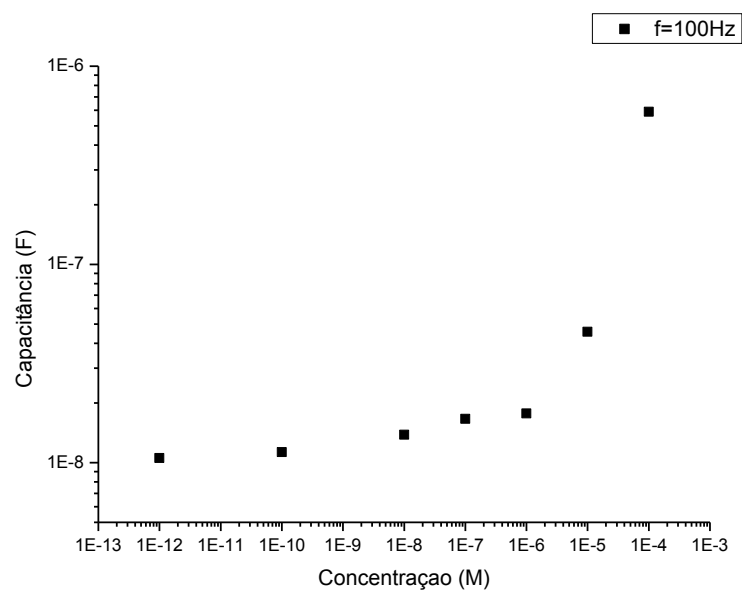
c)

Fig. 5.1 - Espectros de a) Capacitância, b) Resistência e c) Fator de Dissipação, obtidos em água ultrapura e em soluções aquosas de Ibuprofeno, em concentrações de 10^{-4} M a 10^{-10} M, a 25° C, adquiridos sem filme sobre os elétrodos interdigitais

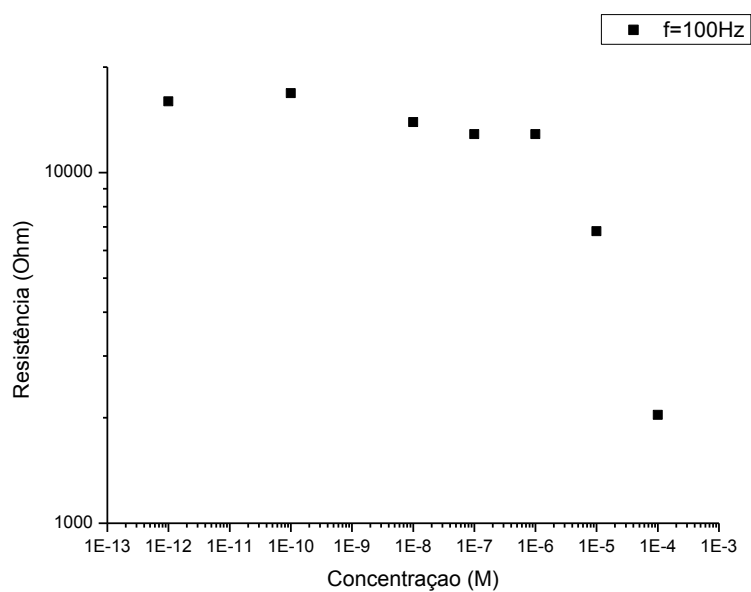
Tendo sido verificado que em todos os espectros à frequência de 100Hz e na sua vizinhança estes denotam um comportamento elétrico semelhante entre as diferentes concentrações, a Impedância àquela frequência foi objeto de uma análise mais detalhada. A diferença de valores de Impedância, quer seja de Resistência, de Capacitância ou do Fator de Dissipação, entre as concentrações analisadas num ensaio, que se traduz na separação entre os espectros obtidos, é outro dos critérios considerados. Por conseguinte, quanto maior o “espaçamento” entre os espectros, maior será a diferença de Impedância entre as soluções de diferentes concentrações, o que permite tornar o sensor mais preciso a distinguir diferentes concentrações de um determinado composto. À frequência de 100 Hz, os espectros de Capacitância, de Resistência e do Fator de Dissipação para a Água ultrapura e para as diferentes concentrações de Ibuprofeno também cumprem este último critério. Assim, os valores de Capacitância obtidos em água ultrapura e com Ibuprofeno dissolvido indicam que, à medida que experimentamos uma diminuição de Concentração, diluindo a solução de Ibuprofeno em fatores de 10, a Capacidade também diminui, observando-se diferenças muito significativas entre 10^{-6} M e 10^{-4} M. Esta informação pode ser verificada pelo gráfico identificado por **Fig. 5.2-a**. A exceção a esta tendência ocorre para a concentração de 10^{-9} M de Ibuprofeno, onde a experiência terá sido condicionada por fatores externos, como algum tipo de agitação mecânica que tenha interferido com os contactos elétricos, uma variação de temperatura ou uma possível contaminação da solução. Relativamente à Resistência, verifica-se o contrário, ou seja, à medida que diluímos a concentração da nossa solução de Ibuprofeno em fatores de 10, verifica-se um aumento de Resistência, que se revela mais drástico entre 10^{-6} M e 10^{-4} M e mais moderado para concentrações mais baixas e destas para Água ultrapura, o que é corroborado pela **Fig. 5.2-b**. Como os valores de Capacitância e Resistência são adquiridos em simultâneo, a medida de Resistência para a concentração de Ibuprofeno de 10^{-9} M também ficou condicionada. Embora a Resistência para uma concentração de 10^{-10} M não respeite a tendência verificada pelo gráfico, o seu valor não se dispersa muito do que seria expectável. Esta dependência das componentes de Impedância com a Concentração de Ibuprofeno ainda se torna mais evidente quando, por fim,

Resultados

analisamos o Fator de Dissipação, na **Fig. 5.2-c**, cujo valor aumenta progressivamente com o aumento da Concentração, dentro do intervalo testado.

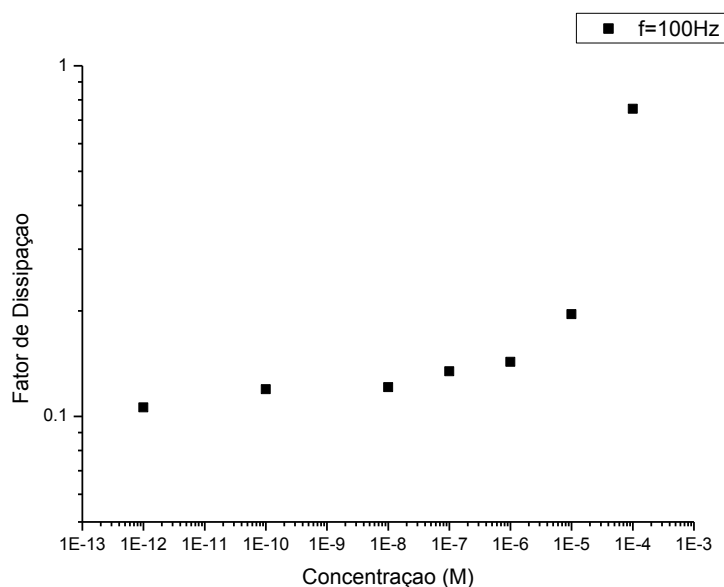


a)



b)

Resultados



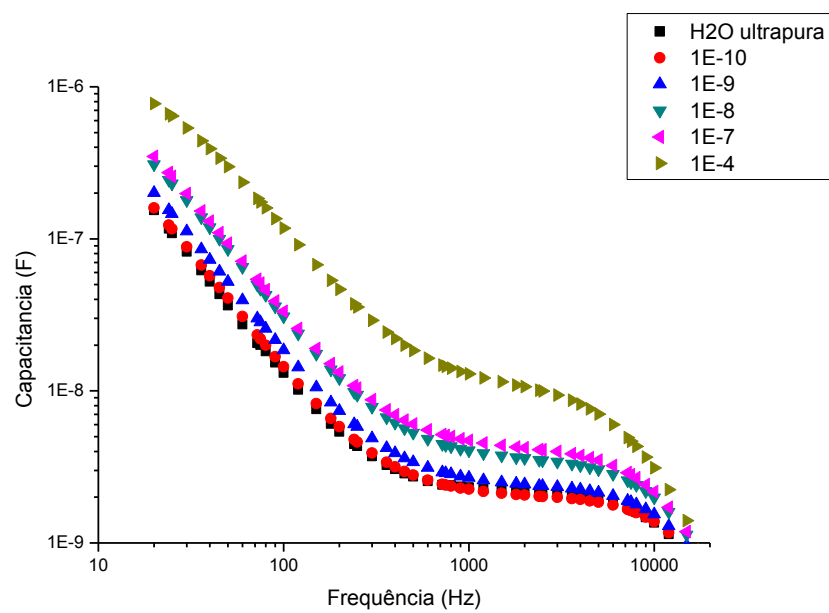
c)

Fig. 5.2- Gráficos que demonstram as dependências de a) Capacitância, b) Resistência e c) Fator de Dissipação com a Concentração (M) de Ibuprofeno em solução aquosa, para uma frequência de 100 Hz. Apenas para efeitos de visualização, assumiu-se que à Água ultrapura corresponde uma concentração de 10^{-12} M de Ibuprofeno.

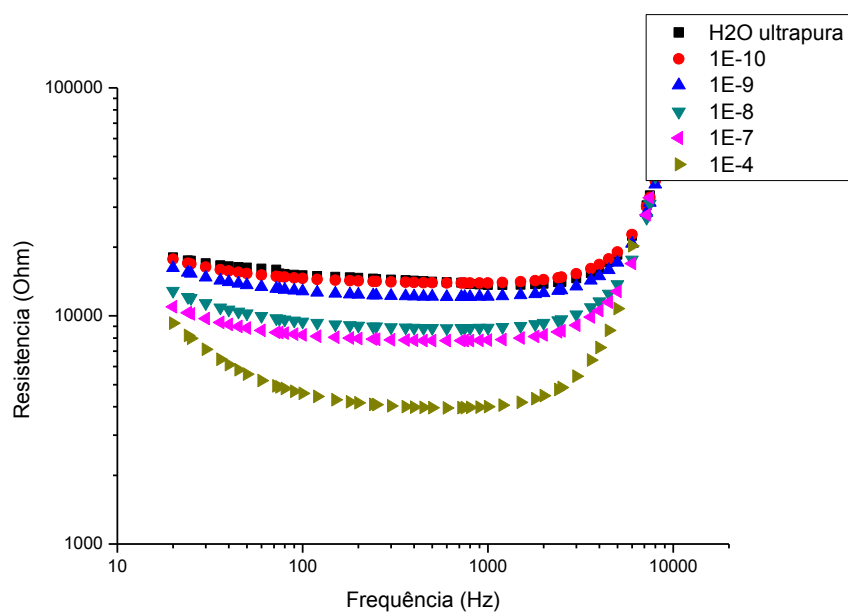
5.1.2. Análise de Água Ultrapura e de soluções aquosas de Cloreto de Sódio

Pelo mesmo procedimento utilizado no ensaio de Ibuprofeno, foram também analisadas as soluções de Cloreto de Sódio. Novamente, as concentrações estudadas variam, década a década, entre 10^{-10} M e 10^{-4} M. Os espectros obtidos, à temperatura de 25° C, demonstram que a presença de NaCl aumenta a Capacitância elétrica da água, produzindo o efeito inverso na Resistência, sendo evidente em frequências compreendidas entre os 20 Hz e os 10000 Hz, o que pode ser comprovado visualmente pela **Fig. 5.3-a** e **-b**. Outro aspecto que é importante verificar é que o Fator de Dissipação aumenta com o aumento de Concentração, o que pode ser observado na **Fig. 5.3-c**, sobretudo entre os 20 Hz e os 1000 Hz.

Resultados

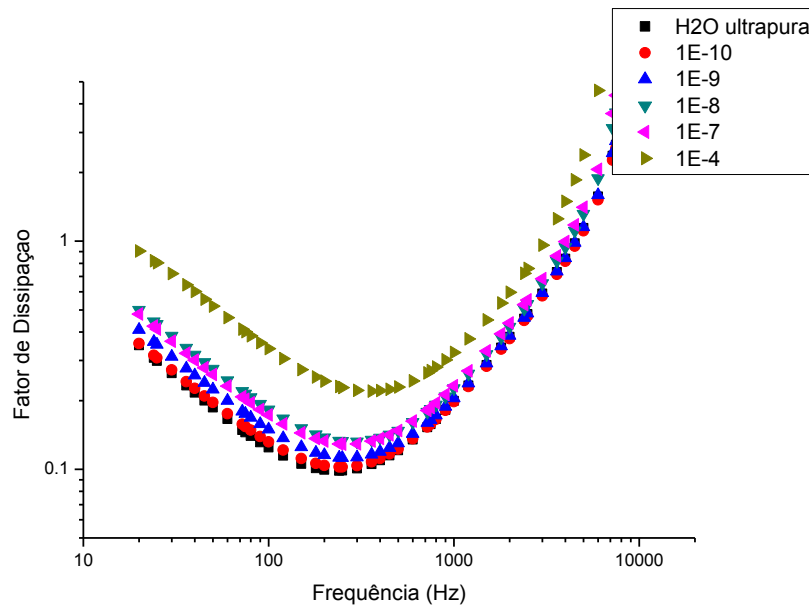


a)



b)

Resultados

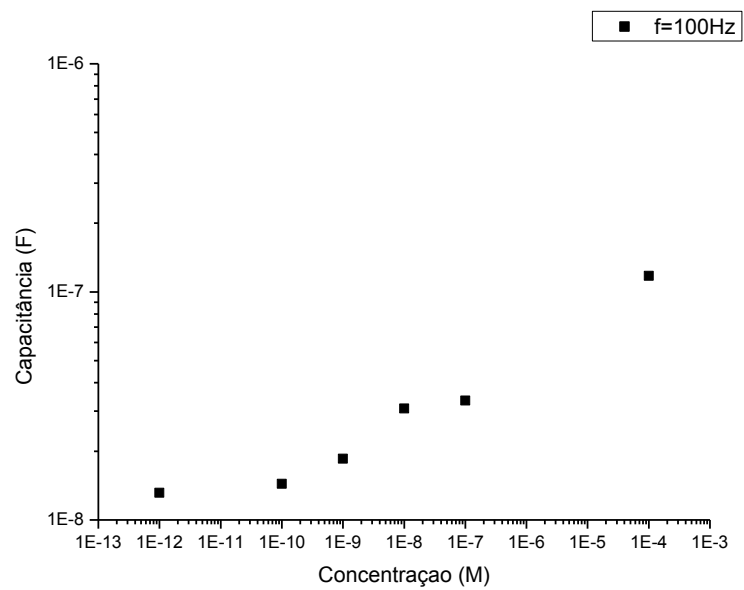


c)

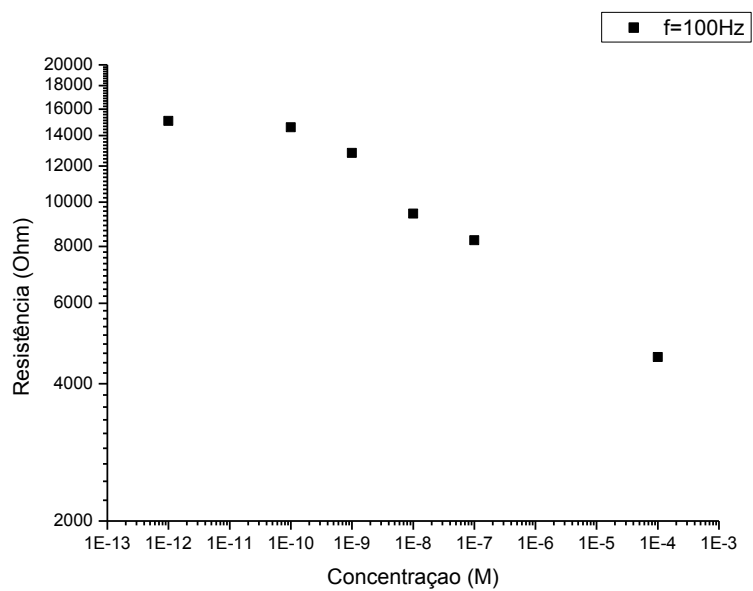
Fig. 5.3 – Espectros de a) Capacitância, b) Resistência e c) Fator de Dissipação, obtidos em água ultrapura e em soluções aquosas de Cloreto de Sódio, em concentrações de 10^{-4} M a 10^{-10} M, a 25° C, adquiridos sem filme sobre os elétrodos interdigitais

Como no ensaio em Ibuprofeno, tendo-se verificado novamente que o sensor apresenta uma resposta elétrica semelhante à frequência de 100 Hz e na sua vizinhança para as diferentes concentrações, as medidas obtidas vão ser analisadas mais pormenorizadamente, para que o sensor constituído unicamente pelo elétrodo interdigitado opere numa única frequência, independentemente do composto que se pretende detetar (Ibuprofeno ou Cloreto de Sódio). Assim, à medida que diluímos a Concentração de 10^{-4} M de Cloreto de Sódio em factores de 10, observa-se uma diminuição da componente Capacitância, sendo mais evidente entre 10^{-4} M e 10^{-7} M, como se pode constatar pela **Fig. 5.4-a**. Contudo, as Impedâncias correspondentes às concentrações de 10^{-5} M e 10^{-6} M estão significativamente desviadas do intervalo de valores esperado, o que poderá indicar algum problema nos contactos eléctricos do sensor, pelo que os respectivos valores foram desconsiderados. Como seria expectável pela dissociação do sal, as medidas de Resistência das diferentes concentrações de Cloreto de Sódio em Água, à frequência de 100 Hz, demonstram que à medida que a Concentração aumenta, a Resistência diminui, como se pode observar na **Fig. 5.4-b**. Na análise da dependência da Resistência com a concentração de NaCl, também se constatou que as concentrações de 10^{-5} M e 10^{-6} M se desviam consideravelmente do intervalo de valores esperado e, tendo a Resistência e a Capacitância sido obtidas em simultâneo, será resultado de alguma interferência nos contactos eléctricos. Como o Fator de Dissipação é calculado a partir da Resistência e da Capacitância, também não serão consideradas as concentrações de 10^{-5} M e 10^{-6} M de NaCl. Observando a **Fig. 5.4-c**, verifica-se uma tendência de aumento do Fator de Dissipação com o aumento da Concentração, não se verificando, porém, para 10^{-7} M. Contudo, dado que os valores de Capacitância e de Resistência se enquadram num intervalo considerado razoável, o resultado anterior não suscitou preocupações de maior relativamente à funcionalidade do sensor Interdigitado.

Resultados

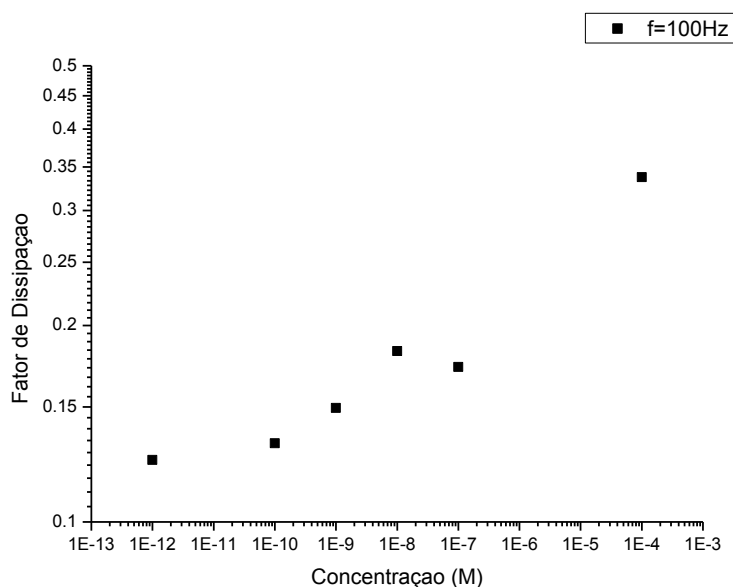


a)



b)

Resultados



c)

Fig. 5.4 - Gráficos que demonstram as dependências de a) Capacitância, b) Resistência e c) Fator de Dissipação com a Concentração (M) de Cloreto de Sódio em solução aquosa, para uma frequência de 100 Hz. Apenas para efeitos de visualização, assumiu-se que à Água ultrapura corresponde uma concentração de 10^{-12} M de Ibuprofeno.

A Espectroscopia de Impedância em soluções de Ibuprofeno e de Cloreto de Sódio, fazendo uso de um eletrodo interdigitado sem filme, demonstrou que a técnica de língua eletrônica por Espectroscopia de Impedância é exequível e que tem potencial, uma vez que os resultados primários indicam que o sensor é funcional para as concentrações analisadas, indiciando a presença dos compostos citados. Pretende-se, então, estender a sensibilidade do sensor para concentrações ainda mais baixas, por via das já mencionadas heteroestruturas sensoriais.

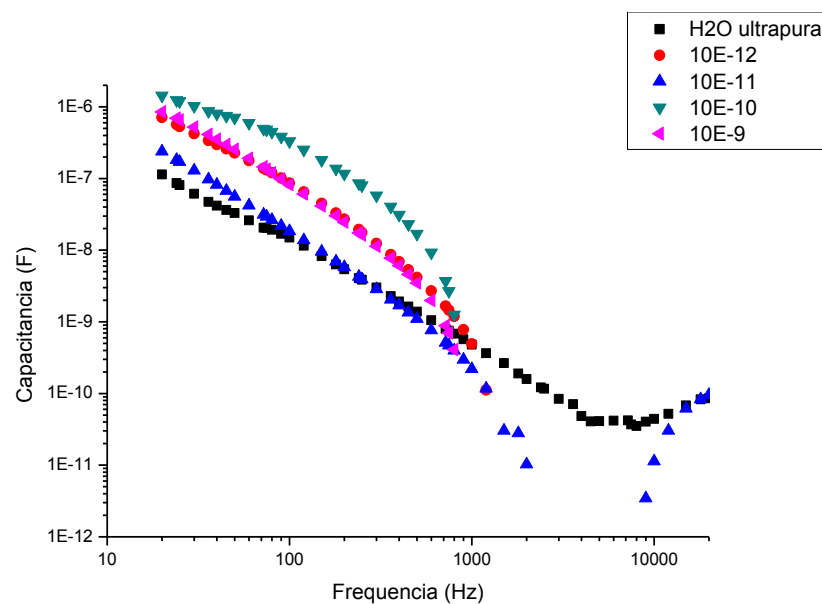
5.2. Análise dos Espectros de Impedância obtidos com a utilização de Heteroestruturas Sensoriais

Tendo-se verificado, numa primeira abordagem, que os eletrodos interdigitados utilizados neste estudo são funcionais e conservam a sua integridade, quando submetidos a um primeiro ensaio e a uma lavagem em água ultrapura, estamos em condições de aplicar a técnica de produção de filmes *LbL* sobre o interdigitado, que conferem propriedades elétricas diferentes ao sensor, pretendendo-se que melhorem a sua sensibilidade. A reprodutibilidade dos resultados obtidos por cada um dos sistemas eletrodo-heteroestrutura foi assegurada pela repetição de cada um dos ensaios, contudo apenas uma versão de cada espectro foi analisada neste texto. As heteroestruturas produzidas foram (PAH/MWCNT)₅, (PAH/PAZO)₅ e (PPV/MWCNT)₁₀. Os termos entre parêntesis referem-se a cada um dos elementos presentes nas bicamadas, sendo o primeiro o composto catiónico e o segundo o de carga oposta, onde o índice representa o número de bicamadas. Antes de se proceder aos ensaios, as estruturas citadas foram caracterizadas pelo processo de Espectroscopia de UV-Vísivel, através do qual se obteve as

respetivas Absorvâncias, que permitiram assegurar se os filmes foram eficazmente adsorvidos nos interdigitados.

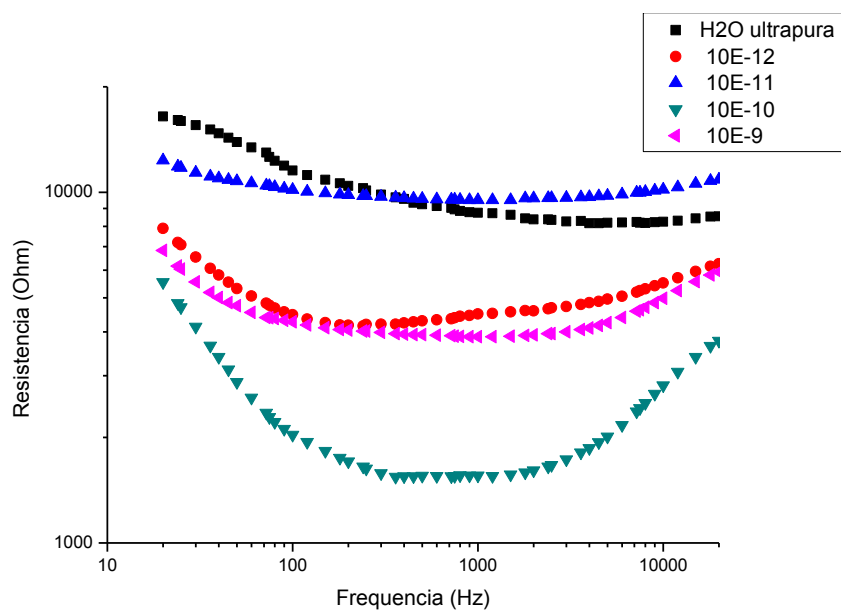
5.2.1. Análise dos Espectros de soluções de Ibuprofeno com Filme (PAH/MWCNT)₅

Foram produzidos filmes compostos por cinco bicamadas de PAH e de MWCNT, procedendo-se à Análise de Impedância de soluções de Ibuprofeno concentradas entre 10^{-12} M e 10^{-9} M, seguindo um protocolo rigorosamente idêntico àquele que foi utilizado nos ensaios sem filme e sob as mesmas condições de temperatura (de 25° C). Tendo em conta que a interface sólido-líquido é agora diferente, uma vez que o filme adsorvido altera as suas características, é relevante perceber como se comporta o novo sistema e em que gama de frequências denota melhores resultados. Deste modo, os espectros obtidos para as componentes real e complexa da Impedância elétrica indicam que a presença de Ibuprofeno em água aumenta a sua Capacitância até uma ordem de grandeza, dentro do intervalo de Concentrações analisado e dentro da região de frequências estável. Ao mesmo tempo, a presença de Ibuprofeno reduz a Resistência da água, mesmo em concentrações tão baixas como as que foram analisadas. Esta constatação advém do facto de, por comparação dos espectros de água ultrapura com os demais, se verificar que os valores de Capacitância são inferiores aos que correspondem às soluções de Ibuprofeno, nas frequências de 20 a 200 Hz, acontecendo o oposto em relação à Resistência e ao Fator de Dissipação, como se pode ver na **Fig. 5.5-a, -b e -c**.

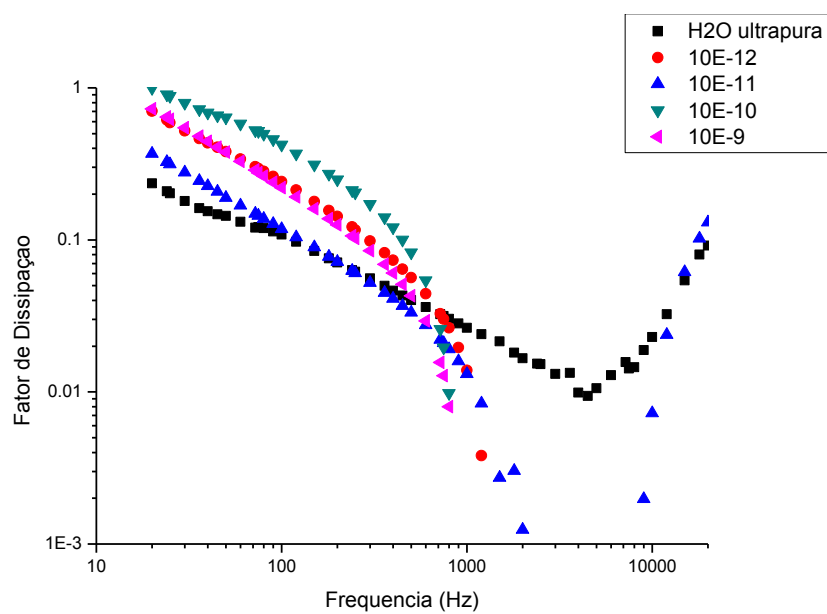


a)

Resultados



b)



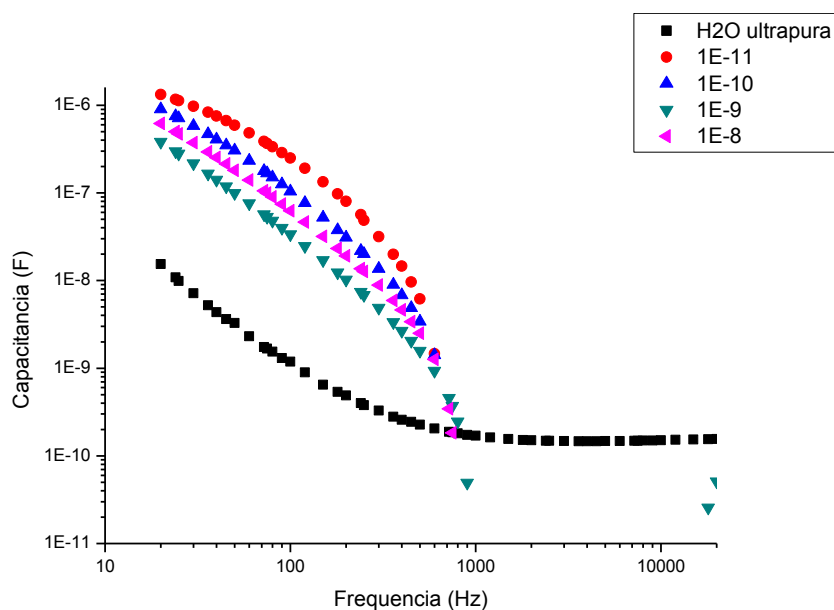
c)

Fig. 5.5 – Espectros de a) Capacitância, b) Resistência e c) Fator de Dissipação, obtidos em Água ultrapura e em solução aquosa de Ibuprofeno, em concentrações de 10^{-9} M a 10^{-12} M, a 25° C, adquiridos com filme de (PAH/MWCNT)₅

Observando-se os espectros de Capacitância, de Resistência e do Fator de Dissipação, percebe-se que à frequência de 100 Hz denotam uma boa separação entre si, sendo que essa frequência pertence ao intervalo em que os espectros apresentam um comportamento mais semelhante. Uma vez mais, estes são os critérios suficientes para que se investigue com mais detalhe a Impedância àquela frequência de sinal, acrescido ao facto de o sensor apresentar alguma instabilidade fora do intervalo compreendido entre os 20 Hz e os 400 Hz, sendo notório nos espectros de Capacitância e de Fator de Dissipação. Contudo, observa-se que o sistema constituído pelo eléctrodo interdigitado no qual se encontra adsorvido o filme de (PAH/MWCNT)₅ é irregular, isto é, existem algumas oscilações entre concentrações de Ibuprofeno consecutivas, ao invés de uma evolução gradual. Não é assim possível, apenas por este método, quantificar a Concentração de Ibuprofeno numa determinada solução, dentro dos limites que foram analisados.

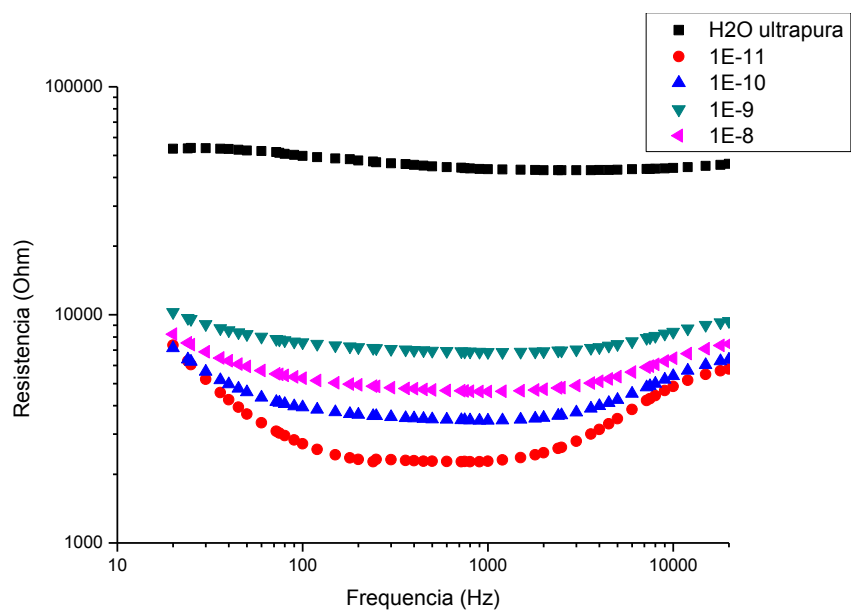
5.2.2. Análise dos Espectros de soluções de Cloreto de Sódio com Filme (PAH/MWCNT)₅

Novamente, procedeu-se a um ensaio de soluções de Cloreto de Sódio, a fim de se confirmar se os resultados obtidos em Ibuprofeno se devem às características do próprio filme ou a outra limitação técnica. Conforme se pode observar pelos espectros da **Fig. 5.6-a, -b e -c**, à frequência de 100Hz estes aparentam boa separação entre si. Percebe-se, porém, que os resultados não são coerentes, porque não demonstram uma evolução gradual em função da Concentração. Estas oscilações podem, contudo, ter origem em alguma perturbação nos contactos eléctricos entre as pontas de prova do Analisador e o sensor. Neste ensaio, as irregularidades manifestam-se nas soluções com concentrações de 10^{-10} M e 10^{-11} M, tanto nos espectros de Capacitância como nos espectros de Resistência, pois seria de esperar que a Capacitância aumentasse progressivamente com o aumento da Concentração de NaCl e que, pelo contrário, a Resistência diminuísse progressivamente desde a solução mais diluída até à mais concentrada, o que não se verifica àquelas concentrações. A **Fig. 5.6-a, -b e -c** comprova as referidas irregularidades nas medições.

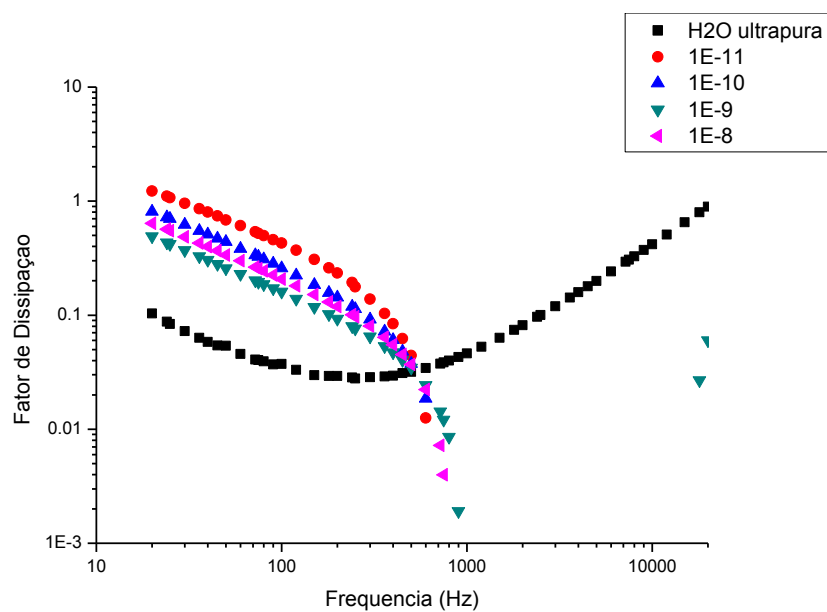


a)

Resultados



b)



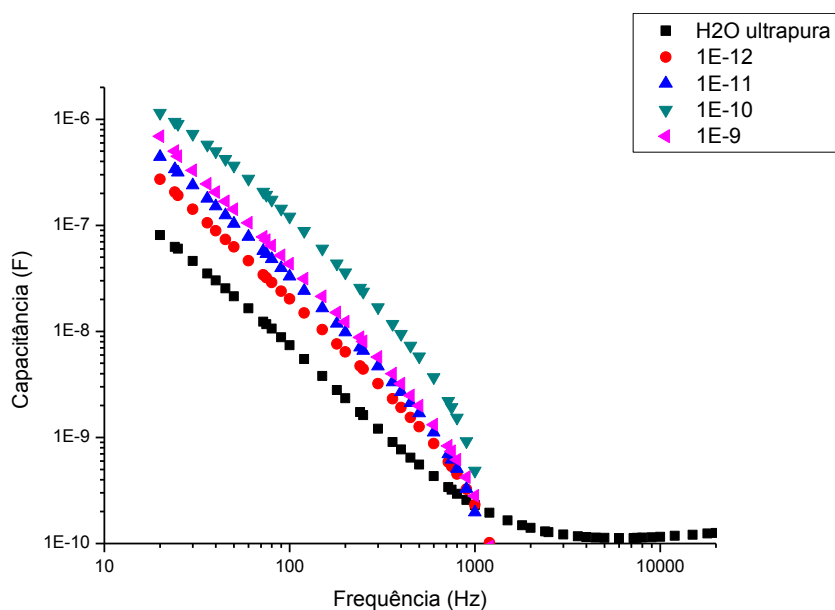
c)

Fig. 5.6 - Espectros de a) Capacitância, b) Resistência e c) Fator de Dissipação, obtidos em Água ultrapura e em solução aquosa de Cloreto de Sódio, em concentrações de 10^{-8} M a 10^{-11} M, a 25° C, adquiridos com filme de (PAH/MWCNT)₅

Apesar das limitações referidas, como se pôde observar, é insensato descurar a informação fornecida por este sistema sensorial, porque apesar de apresentar irregularidades, os espectros apresentam comportamentos semelhantes, o que demonstra que as medições ocorreram num ambiente estável mas em condições distintas. Essa constatação poderá indicar com maior probabilidade que o problema tem origem nos contactos entre as pontas de prova e os elétrodos do sensor, não subsistindo dúvidas quanto ao teor de composto associado a cada Concentração. Por essa razão, os dados obtidos com este sistema sensorial têm ainda potencial para uma análise mais detalhada.

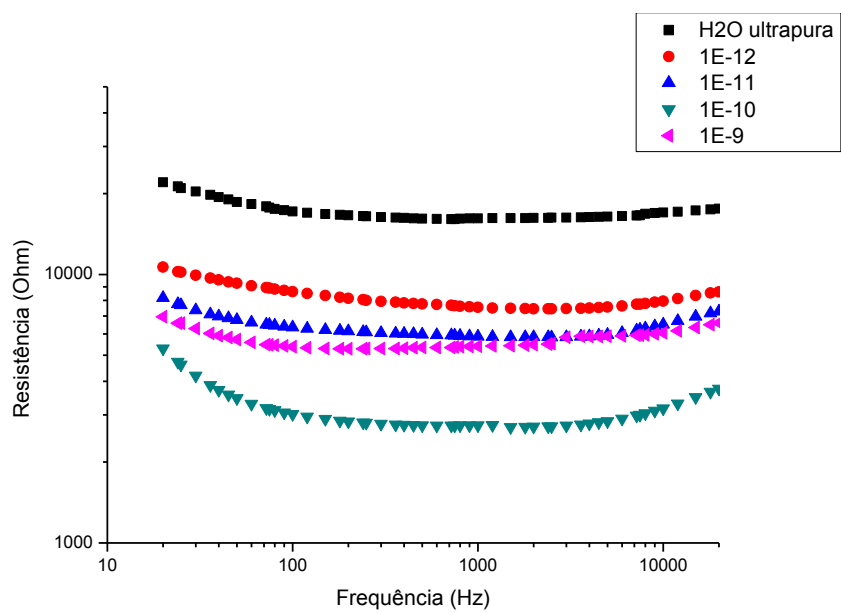
5.2.3. Análise dos Espectros de soluções de Ibuprofeno com Filme (PAH/PAZO)₅

Outros filmes produzidos foram os de (PAH/PAZO)₅, tendo sido efetuada a análise de Impedância nos mesmos moldes que os ensaios anteriores, mantendo as mesmas condições de temperatura (25 °C). As concentrações de Ibuprofeno das soluções analisadas variam entre 10^{-12} M e 10^{-9} M. Interessa novamente analisar se os resultados obtidos por este sistema, constituído pelo sensor interdigitado e pelo filme em si adsorvido, permitem selecionar uma frequência na qual os valores de Resistência e de Capacitância das diferentes concentrações sejam distinguíveis. Analisando os espectros, representados pela **Fig. 5.7-a, -b e -c**, pôde verificar-se que, tanto para o de Capacitância como para o de Resistência, à frequência de 100 Hz estes apresentam uma boa separação, o mesmo acontecendo com os espectros do Fator de Dissipação, o que à partida poderia indiciar que este sistema permite distinguir os valores de Impedância para as diferentes Concentrações. No entanto, analisando em detalhe os espectros, percebe-se que para a solução com Concentração de 10^{-9} M de Ibuprofeno os valores de Resistência, de Capacitância e de Fator de Dissipação afastam-se dos intervalos expectáveis face às tendências denunciadas pelas demais concentrações, o que se poderá dever a um problema de contacto elétrico entre as pontas de prova do Analisador e os elétrodos do sensor. Daqui se conclui que, apesar do potencial deste sistema, é necessário recorrer a outro tipo de análise aos resultados, a fim de se perceber a relevância dos mesmos no âmbito deste estudo.

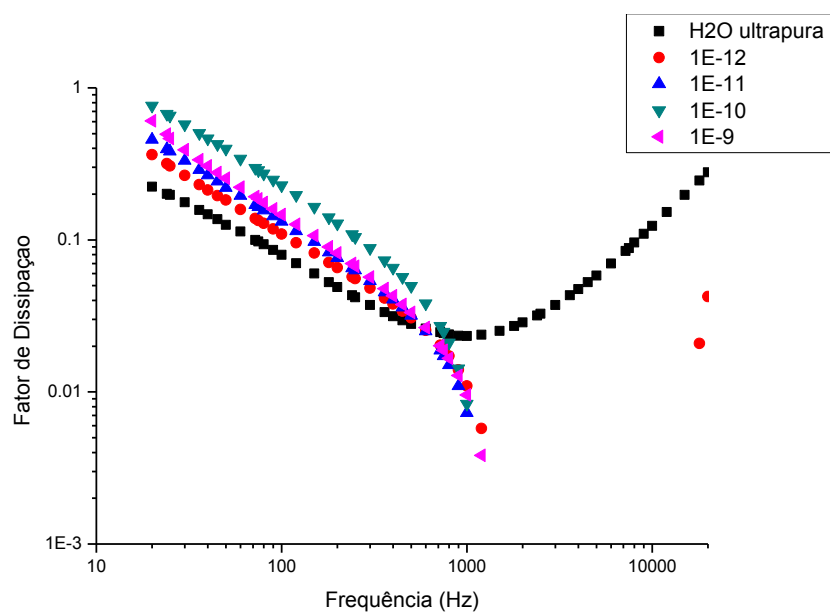


a)

Resultados



b)

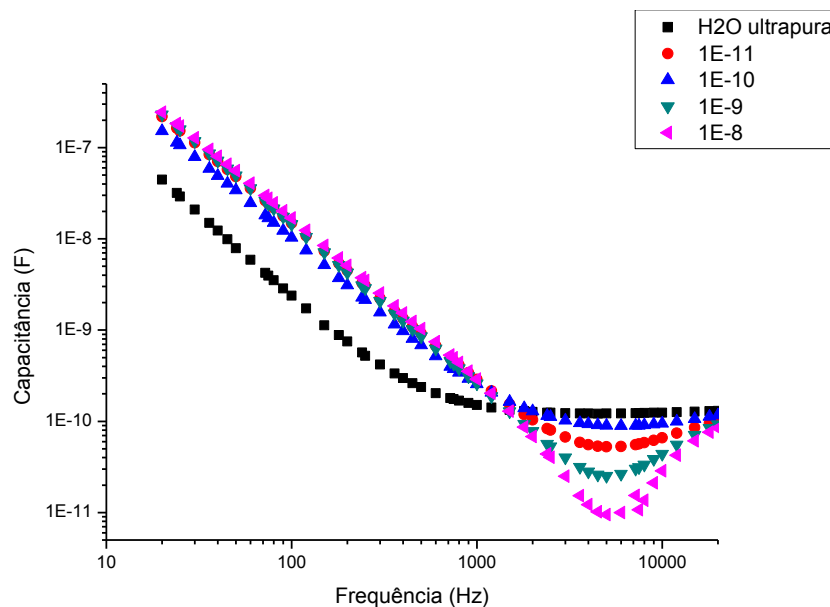


c)

Fig. 5.7 – Espectros de a) Capacitância, b) Resistência e c) Fator de Dissipação, obtidos em Água ultrapura e em solução aquosa de Ibuprofeno, em concentrações de 10^{-9} M a 10^{-12} M, a 25° C, adquiridos com filme de (PAH/PAZO)₅

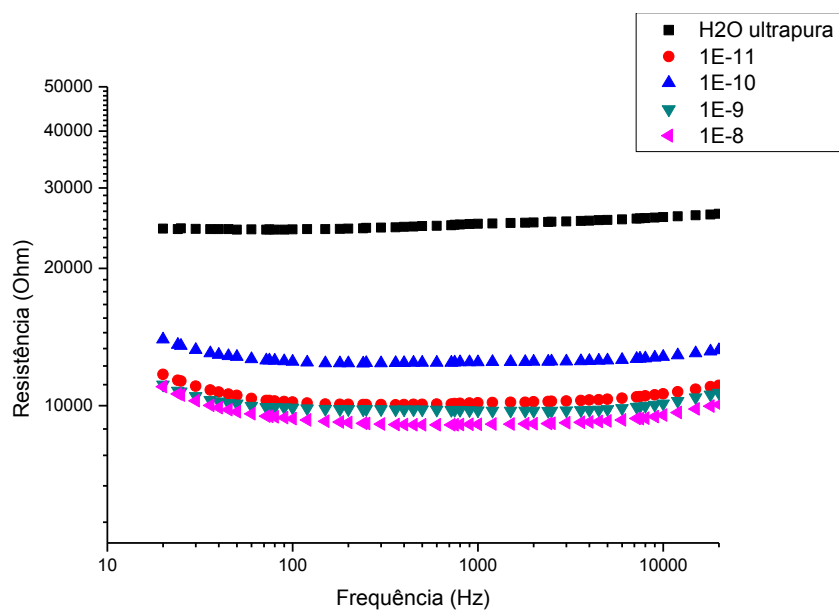
5.2.4. Análise dos Espectros de soluções de Cloreto de Sódio com Filme (PAH/PAZO)₅

Uma vez mais, realizou-se um ensaio em soluções de NaCl, para que se compreenda se o sistema em estudo apresenta potencial para outras moléculas-alvo, da mesma forma que apresenta para o Ibuprofeno. Assim, como se percebe pelos espectros de Capacitância, de Resistência e de Fator de Dissipação, representados nas **Fig. 5.8-a, -b e -c**, verifica-se que o sistema tem, de facto, potencial, dado que apenas para uma das concentrações, a de 10^{-11} M, os resultados obtidos não são coerentes, esperando-se que estivessem compreendidos entre os valores da água ultrapura e da Concentração de 10^{-10} M. Essa irregularidade é perceptível entre os 20 Hz e aproximadamente os 1000 Hz, que é uma região de frequências em que os espectros demonstram estabilidade. Para manter a coerência do estudo deste sistema sensorial, a frequência de 100 Hz foi selecionada para ser analisada com maior detalhe. Excluindo a Concentração de 10^{-11} M, onde parece ter ocorrido uma perturbação no sistema, percebe-se que existe uma distinção entre os valores de Impedância obtidos para as diferentes concentrações de NaCl e destes para os valores de água pura, que se traduz numa boa sensibilidade do sistema sensorial na discriminação entre diferentes concentrações. Pese embora esse facto, estes resultados ainda não são satisfatórios, tendo em conta a finalidade deste estudo.

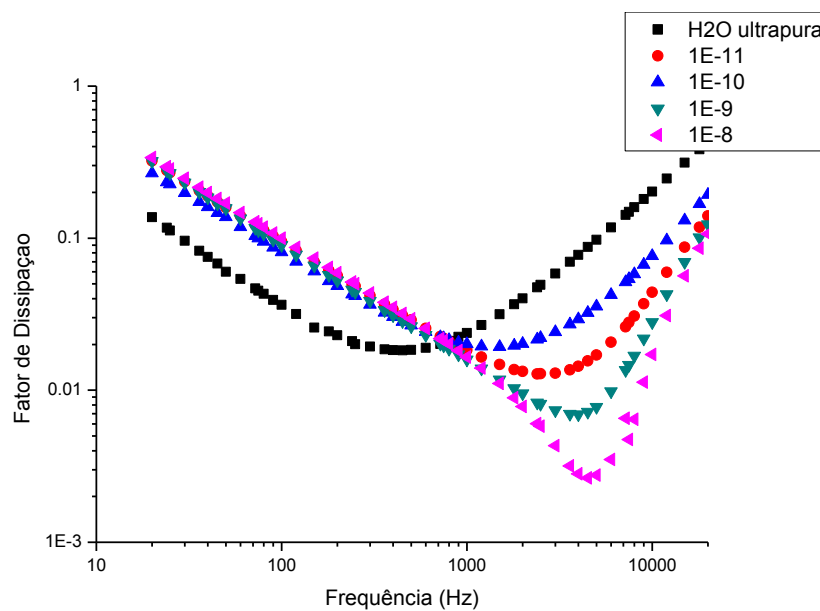


a)

Resultados



b)

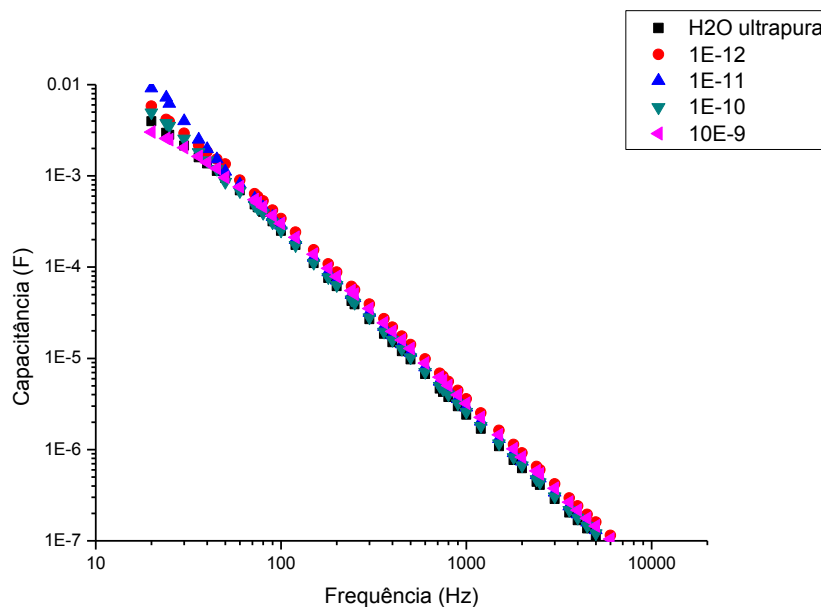


c)

Fig. 5.8 - Espectros de a) Capacitância, b) Resistência e c) Fator de Dissipação, obtidos em Água ultrapura e em solução aquosa de Cloreto de Sódio, em concentrações de 10^{-8} M a 10^{-11} M, a 25° C, adquiridos com filme de (PAH/PAZO)₅

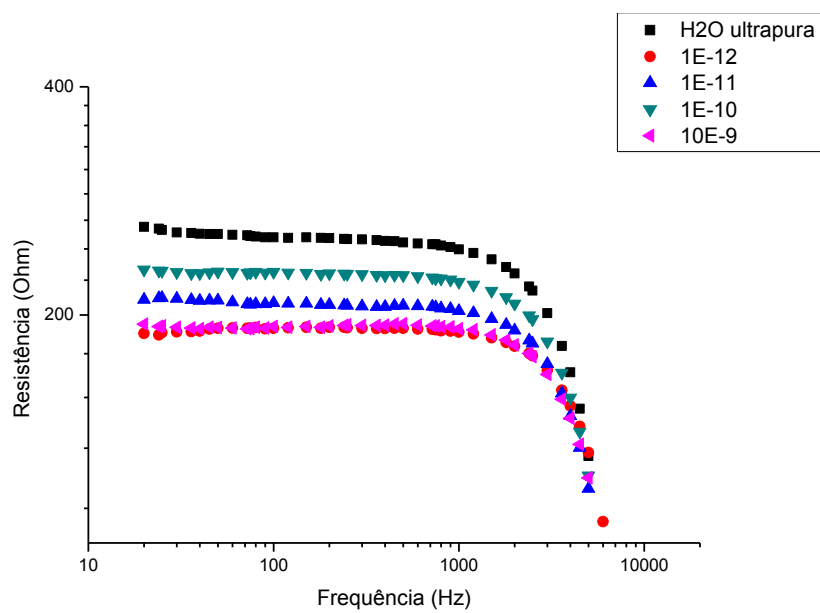
5.2.5. Análise dos Espectros de soluções de Ibuprofeno com Filme (PPV/MWCNT)₁₀

O último filme produzido neste estudo foi, como referido anteriormente, o (PPV/MWCNT)₁₀. Para o ensaio em Ibuprofeno foi utilizado o mesmo procedimento que nos filmes anteriores. O espectro de Capacitância obtido, visível na **Fig. 5.9-a**, mostra que o sistema é extremamente instável até aproximadamente aos 50 Hz, frequência a partir da qual os espectros deixam de se intersectar entre si. Relativamente ao espectro de Resistência, na **Fig. 5.9-b**, entre os 20 Hz e os 2000 Hz existe uma separação considerável entre os espectros. Relativamente ao espectro do Fator de Dissipação, representado pela **Fig. 5.9-c**, também revela alguma instabilidade até aproximadamente aos 80 Hz, ocorrendo diversas intersecções entre espectros. Assim, a frequência de 100 Hz é um valor razoável para ser analisado com mais detalhe. No entanto, conforme se pode depreender pelos espectros, a Capacitância, a Resistência e, por sua vez, o Fator de Dissipação, não têm uma relação evidente com a Concentração da molécula-alvo. Não é, assim, possível descriminar as Concentrações em função dos valores de Impedância obtidos, pelo que os resultados deste sistema, quando considerados isoladamente, não são fiáveis para a finalidade a que este estudo de propõe.

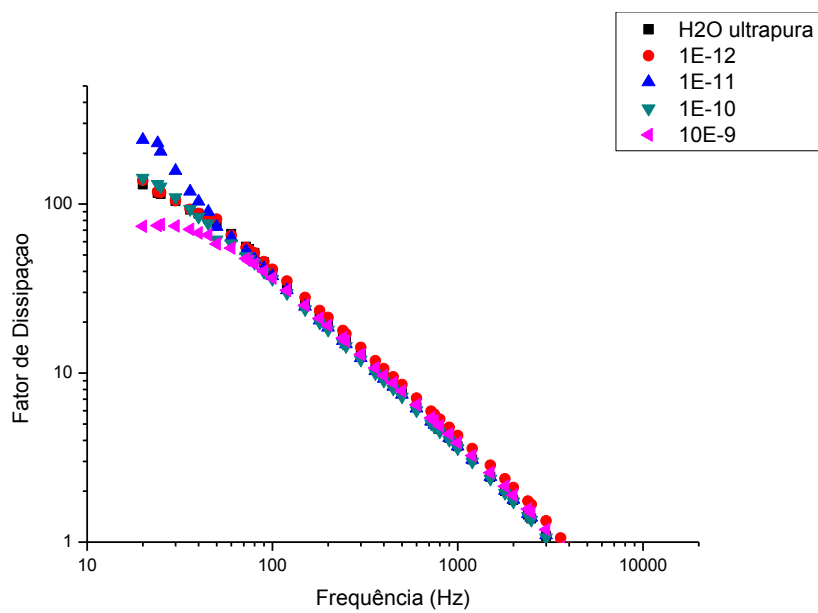


a)

Resultados



b)

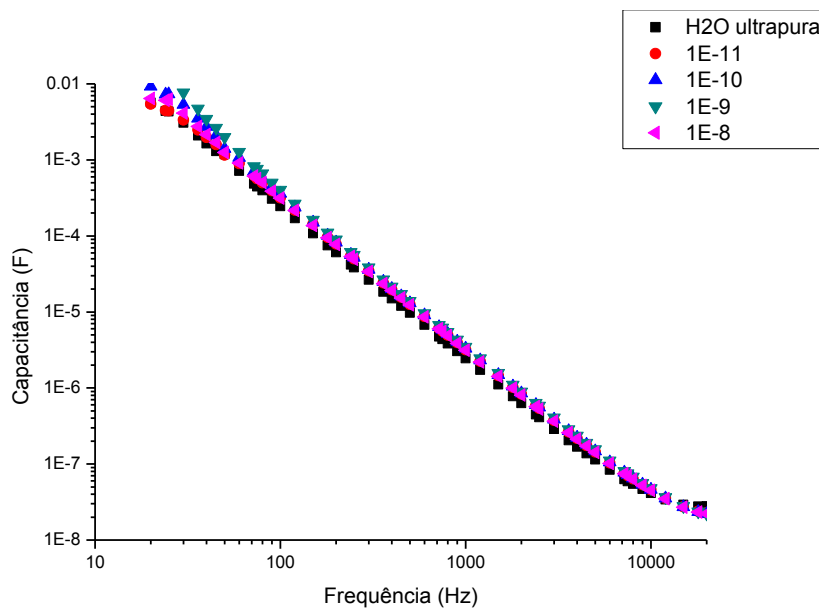


c)

Fig. 5.9 - Espectros de a) Capacitância, b) Resistência e c) Fator de Dissipação, obtidos em Água ultrapura e em solução aquosa de Ibuprofeno, em concentrações de 10^{-9} M a 10^{-12} M, a 25° C, adquiridos com filme de (PPV/MWCNT)₁₀

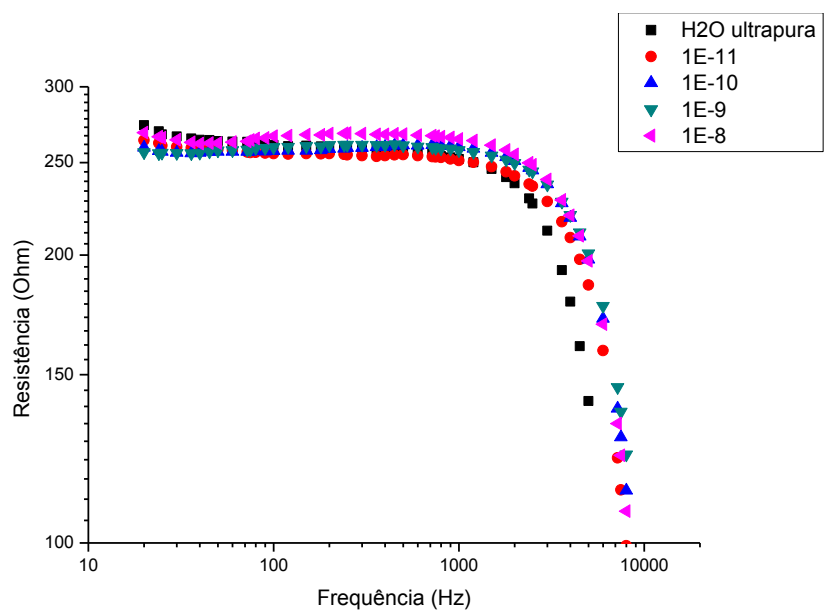
5.2.6. Análise dos Espectros de soluções de Cloreto de Sódio com Filme (PPV/MWCNT)₁₀

Os últimos espectros de Capacitância, de Resistência e de Fator de Dissipação obtidos no âmbito deste estudo foram para soluções de Cloreto de Sódio, pelo sistema constituído pelo sensor interdigitado com filme de (PPV/MWCNT)₁₀. Os espectros de Capacitância e de Resistência, representados na **Fig. 5.10-a** e **-b**, são algo irregulares, ocorrendo várias intersecções entre os mesmos sensivelmente até aos 80 Hz, frequência a partir da qual o sistema aparenta ter estabilizado. O mesmo sucede-se com os espectros de Fator de Dissipação, que sofrem intersecções até aquele valor de frequência, como se pode observar na **Fig. 5.10-c**. Analisando os mesmos espectros à frequência de 100 Hz, que foi a mesma que foi selecionada no ensaio em Ibuprofeno, verifica-se que para as concentrações compreendidas entre 10^{-11} M e 10^{-8} M, não é perceptível uma relação evidente da Concentração de NaCl com a Capacitância nem com a Resistência. Contudo, aquela frequência foi objeto de uma análise mais profunda, nomeadamente através do método de PCA. Relativamente ao espectro do Fator de Dissipação, também não é possível compreender a relação entre esta grandeza e a Concentração de NaCl, no conjunto considerado, pelo que não é possível discriminá-las somente a partir dos espectros obtidos por este sistema.

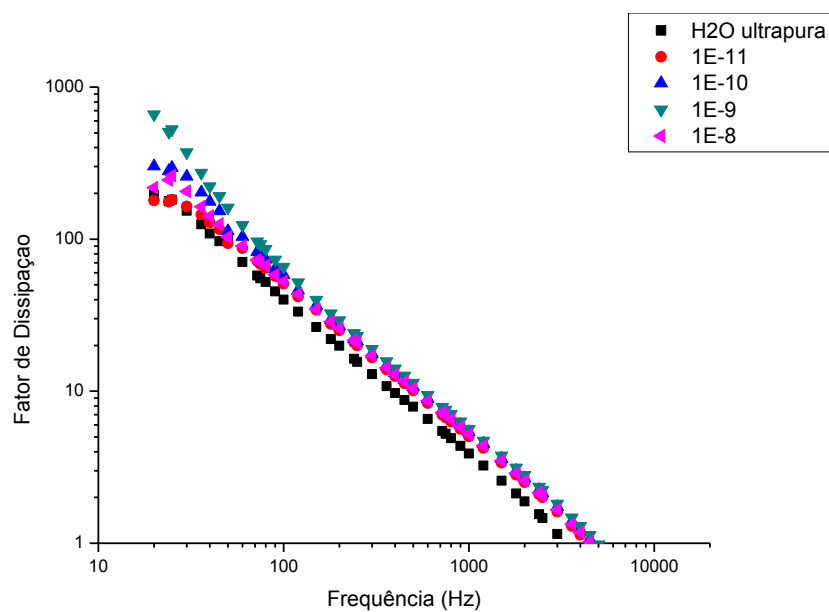


a)

Resultados



b)



c)

Fig. 5.10 - Espectros de a) Capacitância, b) Resistência e c) Fator de Dissipação, obtidos em Água ultrapura e em solução aquosa de Cloreto de Sódio, em concentrações de 10^{-8} M a 10^{-11} M, a 25° C, adquiridos com filme de (PPV/MWCNT)₁₀

5.2.7. Observações

Como se pode compreender pelos dados espectrais obtidos anteriormente, quando foram utilizadas heteroestruturas sensoriais, não foi possível distinguir com total eficácia diferentes Concentrações de Ibuprofeno ou de NaCl situadas nas escalas nano a picomolar. Contudo, não é necessário considerar os dados obtidos por cada sistema isoladamente, pois esse seria um fator limitativo neste estudo. Na verdade, ainda que aqueles dados não sejam absolutamente consistentes em cada ensaio e, por vezes, não pareçam coerentes entre si, a análise individual dos espectros é ainda uma abordagem muito superficial. É, portanto, necessário recorrer a métodos de análise mais complexos, que passam pelo estudo de outras variáveis, as quais também permitam caracterizar o comportamento elétrico específico das soluções consideradas, e pela aplicação do método de PCA aos dados assim recolhidos.

5.3. Discriminação de Concentrações por aplicação de PCA

Como ponto de partida na Análise de Componentes Principais, é necessário seleccionar as variáveis a que pretendemos aplicar este método analítico. Como se constatou na análise espectral, as grandezas diretamente medidas pelo Analisador de Impedância, a Capacitância e a Resistência, não oferecem uma solução viável que permita distinguir diferentes concentrações entre 10^{-9} M a 10^{-12} M para Ibuprofeno e entre 10^{-8} M a 10^{-11} M para Cloreto de Sódio, à excepção dos dados obtidos através do sensor sem filme, que contribuíram efectivamente para os resultados obtidos por PCA. Desse modo, foi importante encontrar outros parâmetros que ofereçam mais informação sobre a resposta eléctrica das soluções de diferentes concentrações. Cada Concentração constitui uma Observação, pelo que 0 M, 10^{-12} M,..., 10^{-9} M são as Observações, no caso do Ibuprofeno, e 0 M, 10^{-11} M,..., 10^{-8} M são as Observações, no caso do NaCl.

5.3.1. Extração das Variáveis

Verificou-se que entre os 20 Hz e aproximadamente os 90 Hz, os espectros de Fator de Dissipação podem ser descritos por funções exponenciais, do tipo $y = A_1 \cdot e^{\left(\frac{-x}{t_1}\right)} + y_0$, onde y representa o Fator de Dissipação e x a frequência. Desse modo, aplicou-se uma regressão não linear daquele tipo a cada um dos espectros, entre 20 Hz e 90 Hz, de onde se obtiveram as constantes A_1 , t_1 e y_0 , que caracterizam as curvas, de acordo com o exemplo da **Fig. 5.11**, que, em particular, foi obtido através do filme de (PAH/PAZO)₅ em soluções de Ibuprofeno. Embora, como foi visto anteriormente, os espectros ilustrados não comprovem em absoluto a relação entre a Concentração de soluto e o Fator de Dissipação, pretendeu-se verificar se as características das curvas continham informação relevante sobre a resposta eléctrica de cada solução. Particularmente, pela relevância e contribuição nos resultados, destaca-se a constante t_1 , que está relacionada com a “taxa” de decaimento das regressões.

Resultados

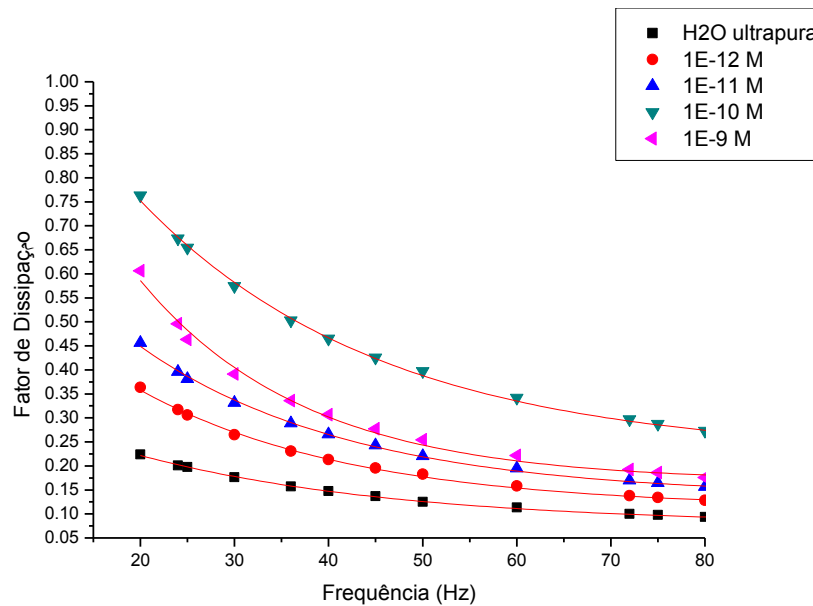


Fig. 5.11 – Exemplo de Regressão não-linear aplicada aos espectros de Fator de Dissipação obtidos entre os 20 e os 90 Hz

Tendo em conta que, tanto para o Ibuprofeno como para o Cloreto de Sódio, foi feito um ensaio sem filme e dois por cada um dos filmes produzidos neste estudo, o conjunto de dados recolhidos é significativo e suficiente para conseguir distinguir as diferentes concentrações. Foram, então, selecionadas as variáveis cujos valores melhor expressam uma relação com a Concentração dos solutos. Pretende-se, por coerência, que as variáveis analisadas sejam as mesmas independentemente do composto em solução, ou seja, pretende-se uniformizar o método de deteção de diferentes solutos. Aquelas variáveis são a Capacitância, a Resistência e as constantes t_1 , das regressões exponenciais, relativas aos ensaios sem filme e as constantes t_1 relativas ao ensaio com (PAH/MWCNT)₅. Estas foram as que mais consistentemente demonstraram alguma relação com a Concentração de soluto, tanto Ibuprofeno como NaCl. Tendo em conta que as Observações definem o número de linhas na matriz de dados e que as Variáveis definem as colunas, obtiveram-se duas matrizes, uma para cada composto, de cinco linhas por cinco linhas (5 × 5).

5.3.2. PCA em Ibuprofeno

Como era esperado, os resultados demonstram uma forte correlação entre os valores das variáveis t_1 obtidas no ensaio com sensor sem filme e em cada um dos ensaios em que foi utilizado o sensor com filme de (PAH/MWCNT)₅. Também a forte correlação entre os valores de t_1 dos dois ensaios com filme é indiretamente representativa da reprodutibilidade desse sistema sensorial. Fundamentalmente, programa de PCA permitiu obter as coordenadas dos fatores (componentes) para cada observação, assim como a percentagem de variância associada a cada Componente Principal. Relativamente à Primeira Componente, esta explica 81.33% da variância total dos dados, sendo possível, por esse motivo, desconsiderar as restantes componentes sem grande perda de informação. De facto, avaliando apenas a Primeira Componente, F1, verifica-se uma relação entre esta e as diferentes concentrações, aumentando o seu valor à medida que aumenta a Concentração de Ibuprofeno. Assim, como se pode observar no gráfico definido pela **Fig 5.12**, onde o eixo das abcissas corresponde à Primeira Componente

Resultados

(F1) e o eixo das ordenadas à Segunda Componente (F2), é evidente a tendência na distribuição das Concentrações, que sendo sucessivamente mais elevadas, vão se distribuindo por valores crescentes de F1. Embora as Observações não se distribuam regularmente ao longo do eixo F1, este resultado permite demonstrar que o conjunto de Variáveis selecionado foi o mais indicado, tendo-se obtido uma sequência lógica. Relativamente a F2, a tendência que se observa entre a água ultrapura e 10^{-10} M é interrompida na Concentração de 10^{-9} M. Porém, dada a pouca relevância daquela Componente do ponto de vista da variância (apenas 15.03% da variância total), esse resultado não é expressivo, nem tão pouco invalida os resultados obtidos para F1, dado que estas variáveis não estão correlacionadas.

É forçoso referir que dois valores dos dados iniciais foram considerados aberrantes, o que se deverá a um insucesso pontual nas respetivas medições, pelo que foram excluídos da matriz de entrada da PCA. Contudo, o programa utilizado permite fazer uma estimativa desses valores através da média do conjunto ou pelo algoritmo nearest neighbour, sendo que o segundo processo revelou resultados mais satisfatórios.

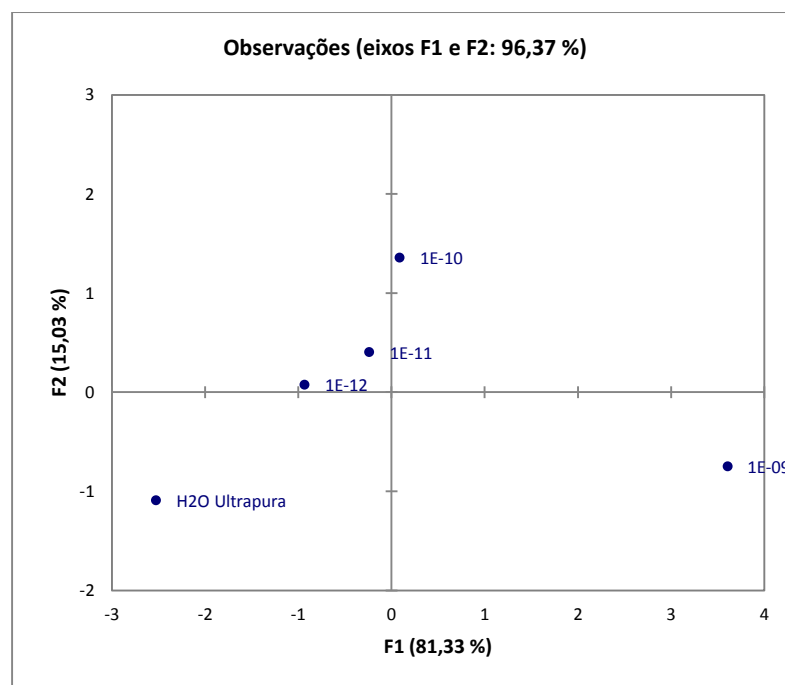


Fig. 5.12 – Representação gráfica que demonstra a relação entre as Concentrações de Ibuprofeno, em 0 M, 10^{-12} M, ... , 10^{-9} M, e as Componentes Principais F1 e F2, que no seu conjunto explicam 96.37% da variância total

5.3.3. PCA em Cloreto de Sódio

Neste caso, os resultados da PCA demonstram uma relação evidente entre o valor da Primeira Componente (F1), que explica 77.85% da variância total, e a Concentração de Ibuprofeno. Ao longo de F1, no sentido dos valores crescentes, as Observações vão se distribuindo com uma regularidade assinalável da mais baixa Concentração para a mais alta. Embora o valor da Concentração mais baixa, 10^{-11} M, seja, na verdade, muito próximo do valor obtido para a água ultrapura e praticamente indistinguível, essa constatação poderá indicar que

Resultados

essa ordem de grandeza corresponde ao limite de detecção de NaCl em água pela metodologia utilizada. Ainda assim, a distribuição das Observações em F2 proporciona um afastamento entre esses dois pontos. Relativamente a F2, não se verifica uma relação evidente entre esta Componente e as Observações. Uma vez mais, como a variância explicada por esta componente apresenta um valor pouco expressivo (14.14%), estes resultados podem ser desconsiderados, sem prejuízo na informação obtida relativamente à Componente F1. A **Fig. 5.13** é representativa das afirmações anteriores. Uma vez mais, existiu uma forte correlação entre os valores de t_1 obtidos nos dois ensaios de (PAH/MWCNT)₅, o que reforça a premissa feita em 5.3.2 sobre a reprodutibilidade dos resultados obtidos por este sistema sensorial, sob o ponto de vista daquela variável, uma vez que se tratam dos mesmos sensores.

Novamente, foram excluídos dois valores na matriz de dados de entrada da PCA, por constituírem aberrações estatísticas, provavelmente associadas a problemas de contacto elétrico ocorridos durante as respetivas medições. Foram, no entanto, estimados pelo algoritmo de nearest neighbour.

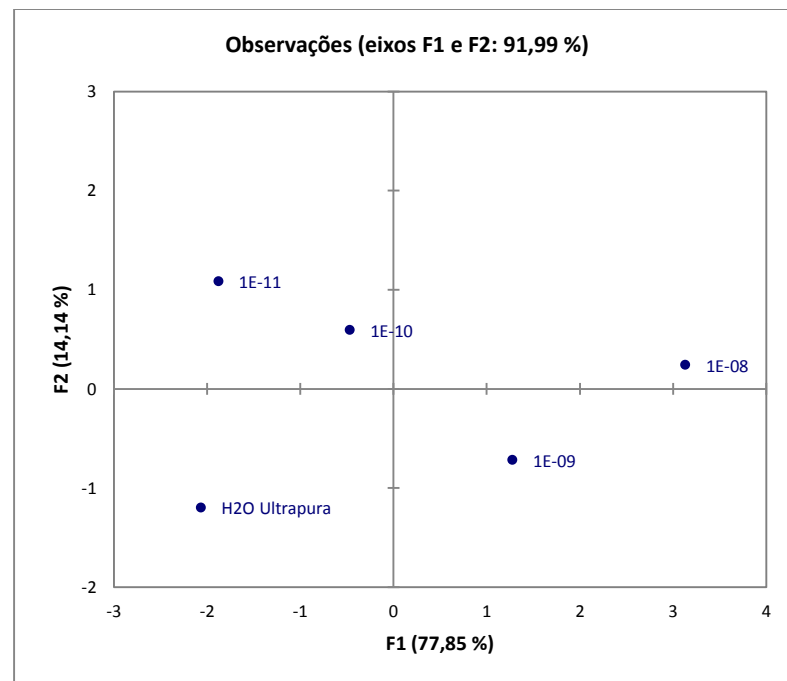


Fig. 5.13 - Representação gráfica que demonstra a relação entre as Concentrações de Cloreto de Sódio, em 0 M, 10^{-12} M, ... , 10^{-8} M, e as Componentes Principais F1 e F2, que no seu conjunto explicam 91.99% da variância total

5.3.4. Comentário Final

Os resultados da aplicação da PCA aos dados obtidos pelas metodologias investigadas demonstram que, combinando os dados sem filme e com filme de (PAH/MWCNT)₅ obtidos por Espectroscopia de Impedância, em particular das variáveis selecionadas para o efeito, foi possível encontrar uma correspondência muito razoável entre a Primeira Componente e as concentrações de Ibuprofeno, dentro dos limites estudados (0 M, 10^{-12} M, ... , 10^{-9} M). O mesmo se verifica relativamente ao composto NaCl (em 0 M, 10^{-11} M, ... , 10^{-8} M), que pela mesma

Resultados

metodologia apresentou bons resultados. É credível antever que a aplicação da mesma metodologia a uma solução arbitrária de um dos compostos estudados, desde que este seja conhecido, dentro dos limites de Concentração considerados, forneça um valor de F1 que corresponda à ordem de grandeza da sua Concentração real. Devido à relativa fragilidade do sistema de aquisição, especialmente em relação aos contactos eléctricos entre as pontas de prova e o sensor, mas também à menor sofisticação do Analisador face a alguns equipamentos mais modernos, a aquisição requeria várias repetições e os dados necessitariam do tratamento estatístico adequado (por exemplo o cálculo da média ou moda dos valores recolhidos). Pode, contudo, subsistir a dúvida relativamente ao valor de F1 da Concentração de 10^{-11} M de NaCl, que é muito próximo do valor de F1 da água ultrapura.

Capítulo VI – Conclusão

6.1. Conclusões

Esta dissertação resulta do trabalho realizado com vista ao desenvolvimento de um sensor para muito baixas concentrações de Ibuprofeno e de Cloreto de Sódio, de nano a pico molar, em meio aquoso. Para o efeito, foram produzidos diferentes sistemas sensoriais compostos por elétrodos planos e por filmes finos de (PAH/MWCNT)₅, de (PAH/PAZO)₅ e de (PPV/MWCNT)₁₀ em si adsorvidos. Inicialmente, fez-se uso dos elétrodos sem heteroestruturas sensoriais para analisar soluções de Ibuprofeno e de NaCl, ambas em concentrações de 10⁻¹⁰M a 10⁻⁴M, e cujos resultados denotam a relação entre a Concentração de cada um daqueles compostos e a Capacitância, a Resistência e o Fator de Dissipação. Por esse motivo, foram produzidos os filmes referidos, que conferem diferentes propriedades elétricas ao sensor, mas foram analisadas Concentrações mais baixas que na situação anterior, isto é, entre 10⁻¹² M e 10⁻⁹ M para Ibuprofeno e 10⁻¹¹ M e 10⁻⁸ M para NaCl. Para que se concluísse acerca da melhor frequência de sinal de tensão elétrica para aplicar às amostras, obtiveram-se previamente os espectros daquelas soluções de Ibuprofeno e de NaCl, verificando-se que à frequência de 100 Hz e na sua vizinhança, em cada um dos sistemas sensoriais analisados, estes apresentam uma resposta elétrica semelhante. O sinal imposto foi do tipo sinusoidal e apresentava uma amplitude de 1 V. Apesar das semelhanças entre os espectros adquiridos, devido à relativa fragilidade dos contactos elétricos entre as pontas de prova do Analisador e as bandas condutoras dos sensores interdigitados, os resultados obtidos para cada filme não foram considerados suficientemente consistentes, quando analisados individualmente, dado que, pontualmente, alguns ensaios não foram absolutamente bem-sucedidos.

Fisicamente, o sistema sensorial que apresentou melhores resultados é composto por um suporte retangular de vidro com elétrodos interdigitados de óxido de índio-estanho impressos numa das suas faces e por um sensor do mesmo tipo, mas em que nos seus elétrodos foram adsorvidas cinco bicamadas de PAH/MWCNT. O funcionamento do sensor é baseado na tecnologia de Língua Eletrónica por Espectroscopia de Impedância, pelo que é necessário a utilização de um Analisador de Impedância, preferencialmente com a possibilidade de aquisição multicanal (que não foi o caso deste estudo). Recorreu-se, portanto, ao método de Análise de Componentes Principais (PCA), que permitiu a seleção das variáveis que apresentam resultados mais robustos e a sua análise conjunta. Como resultado da aplicação da PCA, o sensor de Ibuprofeno (e de Cloreto de Sódio) permite detetar e discriminar concentrações de 0 M, 10⁻¹² M a 10⁻⁹ M (0 M, 10⁻¹¹ M a 10⁻⁸ M, no caso de NaCl), sendo que para isso é necessária a obtenção dos valores de Capacitância e de Resistência, ambas para uma frequência de 100 Hz, e as constantes t_1 das regressões exponenciais do Fator de Dissipação, relativas aos ensaios sem filme, e as constantes t_1 , relativas ao ensaio com (PAH/MWCNT)₅. Na análise dos resultados da PCA, a Primeira Componente (F1) explica 81.33% da variância total no caso das soluções de Ibuprofeno e 77.85% no caso das soluções de NaCl, pelo que é aquela que deve ser considerada para efeitos de deteção e discriminação de concentrações. Constatou-se que, para ambos os compostos dissolvidos em água, existe uma relação entre a Concentração de soluto e a Primeira Componente, tal que F1 é tanto maior quanto maior for a Concentração analisada, dentro dos limites testados neste estudo.

Em suma, considerando o que foi referido anteriormente, pode concluir-se que o objetivo deste estudo foi alcançado, tendo-se conseguido definir um conjunto de metodologias que permitem a deteção de Ibuprofeno em meio aquoso, desde o nano ao picomolar, e que, ao mesmo tempo, apresentam potencial para outro tipo de compostos que se deseje detetar, como foi o caso do Cloreto de Sódio.

6.2. Perspetivas para o Futuro

Tendo em conta os resultados obtidos, a importância da tecnologia de Língua Eletrónica por Espectroscopia de Impedância no contexto deste estudo é por demais evidente. Assim, pretende-se em trabalhos futuros investigar novas camadas sensoriais, possivelmente preparadas a partir de moléculas biológicas que tenham forte interação específica com o Ibuprofeno para melhorar a deteção deste composto numa matriz complexa. Pretende-se também analisar a presença de Ibuprofeno em amostras de água reais para verificar a possibilidade deste sensor vir a ser apresentado com um protótipo credível de deteção de Ibuprofeno.

Referências

- [1] CHRISTIAN G. DAUGHTON & THOMAS A. TERNES, *Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Agents of Subtle Change?*, 1999, Environ Health Perspect, Vol. 107, Sup. 6
- [2] JENNIFER L. PACKER, A. JEFFREY J. WERNER, DOUGLAS E. LATCH, KRISTOPHER MCNEILL & WILLIAM A. ARNOLD, *Photochemical fate of pharmaceuticals in the environment: Naproxen, diclofenac, clofibrac acid, and ibuprofen*, 2003, Aquatic Sciences, Vol. 65, 342-351
- [3] HANS-RUDOLFBUSER, THOMASPOIGER & MARKUS D. MULLER, *Occurrence and Environmental Behavior of the Chiral Pharmaceutical Drug Ibuprofen in Surface Waters and in Wastewater*, 1999, Environment Science & Technology, American Chemical Society, Vol. 33, 2529-2535
- [4] FABIOLA MÉNDEZ-ARRIAGA, SANTIAGO ESPLUGAS & JAIME GIMÉNEZ, *Degradation of the emerging contaminant ibuprofen in water by photo-Fenton*, 2009, Water Research, Elsevier, Vol. 44, 589-595
- [5] IAN S. HAWORTH, *Ibuprofen*, 2014, Chemistry Explained, Advameg Inc
- [6] LAURA E. JACOBS, RYAN L. FIMMEN, YU-PING CHIN, HEATH E. MASH & LINDA K. WEAVERS, *Fulvic acid mediated photolysis of ibuprofen in water*, 2011, Water Research, Elsevier, Vol. 45, 4449-4458
- [7] DRUGBANK.CA, *Ibuprofen*, Drugs, The Metabolomics Innovation Centre (TMIC)
- [8] R. HUDEC, M. KRISKA, L. BOZEKOVA & V. FOLTAN, *Comparison of NSAID consumption in Slovakia, Finland and Norway*, 2008, Bratislava Medical Journal, Vol. 109 (8)
- [9] WERNER AHRER, ELISABETH SCHERWENK & WOLFGANG BUCHBERGER, *Determination of drug residues in water by the combination of liquid chromatography or capillary electrophoresis with electrospray mass spectrometry*, 2000, Journal of Chromatography A, Elsevier, Vol. 910, 69-78
- [10] MARTIN J. HILTON & KEVIN V. THOMAS, *Determination of selected human pharmaceutical compounds in effluent and surface water samples by high-performance liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry*, 2003, Journal of Chromatography A, Elsevier, Vol. 1015, 129-141
- [11] JEFFERY D. CAHILL, EDWARD T. FURLONG, MARK R. BURKHARDT, DANA KOLPIN & LARRY G. ANDERSON, *Determination of pharmaceutical compounds in surface- and ground-water samples by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry*, 2004, Journal of Chromatography A, Elsevier, Vol. 1041, 171-180
- [12] J.L. SANTOS, I. APARICIO & E. ALONSO, *Occurrence and risk assessment of pharmaceutically active compounds in wastewater treatment plants. A case study: Seville city (Spain)*, 2004, Environment International, Vol. 33 (4), 596-601
- [13] PATRYCJA CIOSEK & WOJCIECH WRÓBLEWSKI, *Sensor arrays for liquid sensing – electronic tongue systems*, 2007, Analyst, 132, 963-978
- [14] ANTONIO RIUL JR., CLÉBER A. R. DANTAS, CELINA M. MIYAZAKI & OSVALDO N. OLIVEIRA JR., *Mini-review: Recent advances in electronic tongues*, 2010, Analyst, RSC Publishing, Vol. 135, 10, 2453-2744

Referências

- [15] ANDREY LEGIN, ALISA RUDNITSKAYA, YURI VLASOV, CORRADO DI NATALE, EMILIANO MAZZONE & ARNALDO D'AMICO, *Application of Electronic Tongue for Quantitative Analysis of Mineral Water and Wine*, 1999, Electroanalysis, Wiley, Vol. 11, 10-11, 814-820
- [16] VICENTE PARRA, ÁLVARO A. ARRIETA, JOSÉ A. FERNÁNDEZ-ESCUDERO, HUGO GARCÍA, CONSTANTIN APETREI, MARÍA L. RODRÍGUEZ-MÉNDEZ & JOSÉ A. DE SAJA, *E-tongue based on a hybrid array of voltammetric sensors based on phthalocyanines, perylene derivatives and conducting polymers: Discrimination capability towards red wines elaborated with different varieties of grapes*, 2006, Sensors and Actuators B: Chemical, Elsevier, Vol. 115, 1, 54-61
- [17] FREDRIK WINQUIST, PETER WIDEB & INGEMAR LUNDSTRÖMA, *An electronic tongue based on voltammetry*, 1997, Analytica Chimica Acta, Elsevier, Vol. 357, 1-2, 21-31
- [18] KIYOSHI TOKO, *Electronic tongue*, 1998, Biosensors and Bioelectronics, Elsevier, Vol. 13, 6, 701-709
- [19] LUIS M. ABEGÃO, *Desenvolvimento de um sensor para detecção de nano e micro concentrações de deltametrina*, 2012, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Caparica, Portugal
- [20] G. PIOGGIA, F. DI FRANCESCO, A. MARCHETTI, M. FERRO & A. AHLUWALIA, *A composite sensor array impedentiometric electronic tongue: Part I. Characterization*, 2007, Biosensors and Bioelectronics, Elsevier, Vol. 22, 11, 2618-2623
- [21] DIOGO VOLPATI, PEDRO H. B. AOKI, CLEBER A. R. DANTAS, FERNANDO V. PAULOVICH, MARIA CRISTINA F. DE OLIVEIRA, OSVALDO N. OLIVEIRA, JR., ANTONIO RIUL, JR., RICARDO F. AROCA & CARLOS J. L. CONSTANTINO, *Toward the Optimization of an e-Tongue System Using Information Visualization: A Case Study with Perylene Tetracarboxylic Derivative Films in the Sensing Units*, 2011, Langmuir, ACS Publications, 28, 1029-1040
- [22] OSVALDO FERREIRA JR., MARIA RAPOSO & ANANTHARAMAN DHANABALAN, *Chapter 1. Langmuir-blodgett and self-assembled polymeric films*, 2001, Handbook of Surfaces and Interfaces of Materials, Vol.4
- [23] QUIRINA FERREIRA, PAULO A. RIBEIRO, OSVALDO N. OLIVEIRA JR. & MARIA RAPOSO, *Long-term stability at high temperatures for birefringence in PAZO/PAH Layer-by-Layer films*, 2012, ACS Applied Materials & Interfaces, Vol. 4, 1470-1477
- [24] QUIRINA FERREIRA, *Estudo da Formação de Filmes Nanoestruturados para aplicação em fotónica*, 2007, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Caparica, Portugal
- [25] YURI LVOV , KATSUHIKO ARIGA , IZUMI ICHINOSE ,TOYOKI KUNITAKE, *Assembly of Multicomponent Protein Films by Means of Electrostatic Layer-by-Layer Adsorption*, 1995, Journal of American Chemical Society, ACS Publications, Vol. 117, 6117-6123
- [26] LOUIS SCHAREF, *Phasors: Sinusoidal Steady State and the Series RLC Circuit*, 2009, Connexions
- [27] SHADY GAWAD, TAO SUN, NICOLAS G. GREEN & HYWEL MORGAN, *Impedance spectroscopy using maximum length sequences: Application to single cell analysis*, 2007, American Institute of Physics, Review of Scientific Instruments 78
- [28] EVGENIJ BARSOUKOV & J. ROSS MACDONALD, *Impedance Spectroscopy Theory, Experiment, and Applications*, 2005, Wiley, 2nd Edition
- [29] JONATHON SHLENS, *A Tutorial on Principal Component Analysis*, 2009, Center for Neural Science, New York University, New York City, Version 3.01

Referências

- [39] SVANTE WOLD, KIM ESBENSEN & PAUL GELADI, *Principal Component Analysis*, 1987, Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, Elsevier, Vol. 2, 1-3, 37-52
- [31] J. EDWARD JACKSON, *A User's Guide to Principal Components*, 2003, Wiley
- [32] ANTÔNIO DE SÁ & EVERALDO VENÂNCIO, *Fabricação e Caracterização de Filmes Automontados de PAH/BSA*, 2010, Centro de Engenharia, Modelagem e Ciências Sociais Aplicadas, Universidade Federal do ABC, Santo André, SP, Brasil
- [33] MOHAMAD S. ALSALHI, JAVED ALAM, LAWRENCE A. DASS & MOHAN RAJA, *Recent Advances in Conjugated Polymers for Light Emitting Devices*, 2011, International Journal of Molecular Sciences, MDPI, Vol. 12(3), 2036-2054
- [34] ALEXANDRE MARLETTA, RAIGNA A. SILVA, PAULO A. RIBEIRO, MARIA RAPOSO & DÉBORA GONÇALVES, *Modeling Adsorption Processes of Poly-p-phenylenevinylene Precursor and Sodium Acid Dodecylbenzenesulfonate onto Layer-by-Layer Films Using a Langmuir-type Metastable Equilibrium Model*, 2009, Langmuir, ACS Publications, Vol. 25(4), 2166-2171
- [35] ALEXANDRE MARLETTA, FERNANDO A. CASTRO, CÉLIO A. M. BORGES, OSVALDO N. OLIVEIRA, JR., ROBERTO M. FARIA & FRANCISCO E. G. GUIMARÃES, *Enhanced Optical Properties of Layer-by-Layer Films of Poly(p-phenylenevinylene) Alternated with a Long Chain Counterion and Converted at Low Temperatures*, 2002, Macromolecules, ACS Publications, Vol. 35(24), 9105-9109
- [36] ALEXANDRE MARLETTA, FRANCISCO E. G. GUIMARÃES & ROBERTO M. FARIA, *Line Shape of Emission Spectra of the Luminescent Polymer Poly(p-Phenylene Vinylene)*, 2002, Brazilian Journal of Physics, Sociedade Brasileira de Física, Vol. 32, 2B
- [37] ODAIR P. FERREIRA, *Nanotubos de Carbono: Preparação e Caracterização*, 2003, Laboratório de Química do Estado Sólido, Instituto de Química, UNICAMP
- [38] JACKELINE B. BRITO, DOUGLAS J.C. GOMES, VANESSA D. JUSTINA, ALINE M.F. LIMA, CLARISSA A. OLIVATI, JOSMARY R. SILVA & NARA C. DE SOUZA, *Nanostructured films from phthalocyanine and carbon nanotubes: Surface morphology and electrical characterization*, 2011, Journal of Colloid and Interface Science, Elsevier, Vol. 367, 467-471